

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1921-1922. — N° 21

DES « TESTS » MICROBIOLOGIQUES
DE CONTAMINATION
DANS LE CONTRÔLE RAPIDE
DU LAIT

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 7 Décembre 1921

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

PAR

Louis CAMUS

Né, le 8 septembre 1895, à Batna (Algérie).

Élève à l'Ecole du Service de Santé militaire.



LYON

A. REY, IMPRIMEUR-ÉDITEUR DE L'UNIVERSITÉ

4, RUE GENTIL, 4

Décembre 1921)

DES « TESTS » MICROBIOLOGIQUES
DE CONTAMINATION
DANS LE CONTRÔLE RAPIDE
DU LAIT

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. H. HUGOUNENQ DOYEN HONORAIRE.
J. LÉPINE. DOYEN.
ROQUE. ASSESSEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, CAZENEUVE, BEAUVISAGE,
LACASSAGNE, TESTUT.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	{ MM. TEISSIER .
Cliniques chirurgicales	{ ROQUE
Clinique obstétricale et Accouchements.	{ BARD
Clinique ophtalmologique	{ TIXIER
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	{ BERARD
Clinique neurologique et psychiatrique.	{ X...
Clinique des maladies des enfants.	{ ROLLET
Clinique des maladies des femmes.	{ NICOLAS
Clinique d'oto-rhino-laryngologie.	{ LÉPINE (J.)
Clinique des maladies des voies urinaires.	{ WEILL
Clinique chirurgicale des maladies des enfants.	{ POLLOSSON (A.)
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie.	{ LANNOIS.
Chimie biologique	{ ROCHET.
Chimie organique et Toxicologie.	{ NOVE-JOSSERAND
Matière médicale et Botanique.	{ CLUZET
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.	{ HUGOUNENQ
Anatomie	{ MOREL
Anatomie générale et Histologie.	{ MOREAU
Physiologie	{ GUIART
Pathologie interne	{ LATARJET
Pathologie et Thérapeutiques générales	{ POLICARD
Anatomie pathologique	{ DOYON
Médecine opératoire	{ COLLET
Médecine expérimentale et comparée.	{ MOURIQUAND
Médecine légale	{ PAVIOT
Hygiène	{ VILLARD
Thérapeutique	{ ARLOING (F.)
Pharmacologie	{ ETIENNE MARTIN
	{ COURMONT (P.)
	{ PIC
	{ FLORENCE (A.)

PROFESSEURS ADJOINTS

Pathologie externe	MM. VALLAS
Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN,
Chimie minérale.	BARRAL
Accouchements	COMMANDEUR
Urologie	GAYET

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Anatomie topographique	MM. PATEL
Botanique	BRETIN
Embryologie	HOVELACQUE
Stomatologie	TELLIER

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER	GARIN	DUROUX	CORDIER
BRETIN	SAVY	HOVELACQUE	ROUBIER
LERICHE	FROMENT	TRILLAT	FAVRE
THEVENOT (Léon)	THEVENOT (Lucien)	SARVONAT	MURARD
TAVERNIER	PIERY	FLORENCE (G.)	BONNET
CADE	COTTE	ROCHAIX	GRAVIER, chargé des fonctions.

M. BAYLE, secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. P. COURMONT, *Président*; M. CADE, *Assesseur*;
MM. ROCHAIX, et CORDIER, *Agrégés*.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1921-1922. — N° 21

DES « TESTS » MICROBIOLOGIQUES
DE CONTAMINATION
DANS LE CONTRÔLE RAPIDE
DU LAIT

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 7 Décembre 1921

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Louis CAMUS

Né, le 8 septembre 1895, à Batna (Algérie),
Élève à l'Ecole du Service de Santé militaire.



LYON

A. REY, IMPRIMEUR-ÉDITEUR DE L'UNIVERSITÉ

4, RUE GENTIL, 4

—
Décembre 1921

A MA GRAND'MÈRE

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

A MON FRÈRE

A TOUS LES MIENS ET A MES AMIS

A MES CAMARADES

MORTS AU CHAMP D'HONNEUR

A LA MÉMOIRE
DE
JACQUES LAUXERROIS
ET DE
HENRI ROUET
MÉDECINS AUXILIAIRES
TUÉS A L'ENNEMI

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR PAUL COURMONT

Professeur d'Hygiène,
Directeur de l'Institut bactériologique,
Chevalier de la Légion d'honneur.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CH. PORCHER

Professeur à l'Ecole nationale vétérinaire,
Chevalier de la Légion d'honneur.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ ROCHAIX

Sous-Directeur de l'Institut bactériologique,
Chevalier de la Légion d'honneur.

A MONSIEUR LE VÉTÉRINAIRE PRINCIPAL

BROCQ-ROUSSEU

Docteur ès sciences,
Directeur du Laboratoire de recherches vétérinaires
du Ministère de la Guerre,
Chevalier de la Légion d'honneur.

A MES MAITRES

A MES JUGES

PRÉFACE

Lorsque M. Camus est venu me demander un sujet de thèse pour présenter en fin de ses études médicales, je l'ai engagé à rechercher les méthodes les plus simples pour déceler dans le lait les microbes indésirables — à l'exclusion des bactéries pathogènes — qui témoignent d'une contamination par les matières fécales.

A l'étranger, et notamment dans les pays anglo-saxons, l'attention a été depuis longtemps attirée sur l'importance qu'il fallait accorder, avec raison, dans la production hygiénique du lait à la richesse qualitative et quantitative de la flore microbienne de cet aliment.

Des règlements administratifs prévoient même une classification des laits basée uniquement sur le dénombrement des microbes qu'ils contiennent, et, en tout cas, le contrôle de la production des laits de choix accorde une valeur importante à la recherche de certaines bactéries dont la présence dans le lait témoignerait que sa récolte n'a pas été entourée de toutes les précautions désirables.

J'ai pensé qu'il était bien qu'on abordât de ce côté,

dans notre pays, l'étude de la production hygiénique du lait.

*
* *

L'analyse courante du lait ne vise à l'heure présente que les constituants massifs de cet aliment ; elle est des plus grossières et croit avoir tout dit, ou, du moins, beaucoup se contentent de ce qu'elle dit, quand elle a donné le taux de la matière grasse, du lactose, de la caséine et des cendres, et, si elle trouve qu'un lait est riche en matière grasse, elle le qualifie de lait pur, de bon lait.

*
* *

C'est une erreur grave, au point de vue hygiénique, que de donner l'analyse chimique uniquement pour base à la recherche du bon lait ; trop d'épidémies, trop de formidables hécatombes d'enfants, aux temps chauds, montrent l'inanité absolue d'une telle conception.

Si les limites de l'analyse chimique du lait ne sauraient être inflexibles, et si le chimiste — qui n'est que chimiste — ne sait pas suffisamment que leurs fluctuations sont sous la dépendance d'un certain nombre de facteurs (la race, le nombre de traites, la rétention lactée possible, l'alimentation, etc.), il ne faut pas ignorer, dans le sens opposé, qu'un lait pourra se tenir dans les limites de la pureté, celle du moins qui est qualifiée par l'analyse chimique, et cependant êtreensemencé par une multiflore jamais tout à fait inoffensive, parfois pathogène, qui n'altère en rien

par sa présence l'aspect extérieur du lait et ses qualités purement nutritives appréciées du point de vue calorifique.

La fameuse charte sur la répression de la fraude, la loi du 1^{er} août 1905, ne peut pas suffire à assurer au public la consommation du bon lait ; elle est ici inopérante, parce que la chimie sur laquelle elle s'appuie n'est d'aucun secours dans l'appréciation de la valeur hygiénique d'un lait. Ce n'est pas parce qu'un inspecteur des fraudes poursuivra le fraudeur avec la dernière énergie que du même coup nous verrons s'évanouir tous les dangers que peut faire courir le lait malpropre. Et ce qu'il faut comprendre ici par lait malpropre, ce n'est pas toujours un lait qui, au premier abord, soit répugnant et laisse déposer dans le fond du récipient qui le contient une couche excrémentitielle plus ou moins abondante ; certes non, et, comme le vrai lait propre, il peut être très engageant, mais au fond il se distingue nettement de celui-ci par les conditions déplorables dans lesquelles il a été recueilli et qui ne tendent rien moins qu'à en faire une culture microbienne.

C'est, à mon avis, sur un véritable sophisme que repose cette opinion qui ne fait dépendre la qualité du lait que de son taux de matière grasse. Dans le public, et aussi malheureusement chez beaucoup de gens de métier qui devraient cependant apporter dans leur jugement une sage circonspection, l'expérience étant là pour la leur imposer, le lait apparaît trop comme une émulsion de graisse, d'autant meilleure qu'elle est plus grasse, opinion aussi fausse que celle

qui consiste à vouloir classer les vins d'après leur richesse en alcool.

Dire d'un lait qu'il est bon, qu'il est pur, parce qu'il répond chimiquement aux normes adoptées, parce qu'il est « riche », la richesse étant ici liée à la matière grasse, est un véritable non-sens.

La définition du lait pur, que je n'ai cessé de proposer, tient pour moi dans ces seuls mots : le lait pur est un lait sain et propre. Elle se rapproche singulièrement plus de la vérité que celle qui répète : le lait pur est un lait riche, et, si l'on sait y satisfaire, l'alimentation de l'enfance, à bon droit exigeante, sera assurée comme il convient.

Une des grandes préoccupations, plus actuelle que jamais, de tous ceux, pouvoirs publics, médecins, qui ont le souci de conserver à la France les enfants qui lui naissent, et que, jusqu'ici, une forte mortalité décimait, est d'assurer à cette enfance, lorsqu'elle ne reçoit pas le sein, un lait irréprochable.

Aux nourriceries qui existent, ici et là, on songe à adjoindre des pavillons où des enfants, d'origine parfois suspecte, ne pouvant pas, par conséquent, être élevés au sein, recevront le biberon. Devant l'impossibilité qu'a le commerce du lait d'assurer régulièrement à des établissements de cet ordre un lait donnant toute confiance, il faut donc prévoir l'organisation d'étables bien tenues attenantes à ces pavillons.

Nous ne devons pas rechercher l'édification d'étables luxueuses ; ce serait sacrifier les deniers publics qui,

plus que jamais, doivent être utilisés sans gaspillage, tout en permettant d'atteindre au but visé.

Lorsque nous aurons des étables convenablement installées, le luxe devra être recherché uniquement pour ainsi dire dans la propreté du personnel. Une discipline rigoureuse, imposée d'abord, mais conduisant peu à peu, il faut l'espérer, à une éducation parfaite de soi-même, procurera, aux gens en contact avec la vache laitière, des habitudes qui, de conscientes, deviendront graduellement inconscientes et ne tendront rien moins qu'à assurer, sans effort, par l'observation de règles, au fond simples à suivre, la production d'un lait de tout premier ordre.

* * *

Pour être assuré que les habitudes de propreté seront de tous les instants, il faut trouver dans la flore du lait la trace du moindre manquement à ces habitudes, et en proposant à M. Camus le sujet de son travail, j'avais l'arrière-pensée de lui demander de rechercher les procédés microbiologiques les plus simples qui nous permettent, devant la responsabilité d'assurer à l'enfance un lait non pollué de germes indésirables, de constater facilement la présence de ceux-ci.

Un lait recueilli dans des conditions de propreté réelle, sans être d'une minutie exagérée, ne doit pas renfermer de B. coli, de B. lactis aerogenes, et si nous devons, à chacune des analyses faites sur le lait des vacheries annexées aux pavillons dont il a été question plus haut, constater dans cet aliment la présence

de ces bactéries, nous pourrions en conclure qu'il y a eu des fautes lourdes dans la récolte et le traitement du lait.

La thèse de M. Camus a pour but de nous indiquer quels sont les meilleurs « tests » de contamination à utiliser dans la recherche du véritable bon lait. M. Camus s'est évidemment beaucoup inspiré des travaux anglo-saxons qui, depuis longtemps, ont été orientés de ce côté. Son travail est plus qu'une ébauche intéressante, car il a su joindre à une bonne documentation bibliographique des recherches personnelles fort bien menées. Je souhaite que plus tard, moins pressé par le temps, il veuille bien les continuer dans la voie où il s'est heureusement engagé.

Ch. PORCHER.

DES « TESTS » MICROBIOLOGIQUES

DE CONTAMINATION

DANS LE CONTRÔLE RAPIDE

DU LAIT

INTRODUCTION

LES SOURCES DE CONTAMINATION DU LAIT

Du fait de sa composition chimique, de sa réaction, de la lenteur de son refroidissement, le lait, si on ne prend pas la précaution de le refroidir après sa récolte, constitue, pour les nombreux microbes qu'une traite malpropre y aura déversés, un excellent milieu de culture, et, malgré la phase « bactéricide » qui commence et se poursuit quelques heures après la mulsion, la plupart des germes qui l'ontensemencé y pullulent bientôt.

Les sources de contamination du lait sont nombreuses :

1° Le lait peut tout d'abord être infecté dans la mamelle même, soit par voie centrifuge, l'infection étant d'origine sanguine (tuberculose, fièvre méditerranéenne, fièvre aphteuse, etc.), soit par voie centri-

pète, l'infection étant d'origine externe (mammites à streptocoques par exemple).

2°. Le lait peut être souillé, dès son contact avec l'extérieur, par des microbes de provenances diverses. La contamination est le fait de l'homme : diphtérie, scarlatine, typhoïde, rougeole, choléra; elle vient de l'animal par ses excréments, sa microflore cutanée, ses écoulements vaginaux; elle résulte du milieu : poussières du sol, du fourrage, etc.

Parker résume, dans le tableau suivant, ces diverses sources de contamination :

- 1° *La vache*. — Pis; fèces et urines; écoulements de la bouche et du nez; peau et annexes.
- 2° *Le milieu*. — Air, plafond, planchers, bat-flanc, nourriture, fourrage, litière, ustensiles, seaux, eau et glace.
- 3° *L'homme*. — Ecoulement du nez et des oreilles; fèces et urines; peau et vêtements.
- 4° *Les parasites*. — Les mouches.

Les diverses espèces pathogènes que le lait peut contenir étant laissées de côté, les bactériologistes ont choisi, pour déceler la contamination indésirable par les matières fécales du lait comme de l'eau, certains « tests » dont la valeur et la signification paraissent indiscutables.

Les recherches du *Bacterium coli*, du *Bacillus lactis aerogenes*, du *Bacillus enteritidis sporogenes* et de certains *streptocoques*, sont celles qui ont été le plus communément choisies par les hygiénistes des différents pays pour apprécier la contamination du lait par les matières fécales.

CHAPITRE PREMIER

LE *BACTERIUM COLI* DANS LE LAIT

I. SA SIGNIFICATION

1° Dans le lait cru. — On sait depuis longtemps que le lait de femme bien portante recueilli aseptiquement ne contient aucun microbe. Deux recherches personnelles sur deux femmes différentes viennent corroborer cette assertion ; elles nous ont, en effet, permis de constater qu'un échantillon était complètement aseptique, alors que l'autre ne contenait qu'une sarcine blanche de la peau, entraînée accidentellement dans le lait lors de sa récolte.

Du lait de vache recueilli, à l'exception des premiers jets, aussi aseptiquement que possible dans un récipient stérile, la traite étant faite sur des animaux bien pansés, avec des *mains propres*, après savonnage du pis et essuyage avec un linge propre, n'est pratiquement jamais, en masse, exempt de germes.

Sa flore est peu variée. Elle est constituée de quelques microcoques, liquéfiant ou non, parfois de

rare staphylocoques ; le *Bacterium lactis acidii* s'y rencontre aussi, mais pas toujours, et il est peu abondant.

Jamais on ne trouve de micro-organismes du groupe coli-aerogenes. C'est postérieurement à la mulsion que ces derniers viennent ensementer le lait quand les précautions les plus élémentaires ne sont pas prises ; ils sont apportés par les poussières du sol et des fourrages, par la malpropreté des récipients, celle de l'homme, celle de l'animal, le mouillage avec des eaux contaminées.

Il est facile, cela étant dit, d'apprécier à sa juste valeur la signification du *B. coli* dans le lait cru.

Puisque le *colibacille* est un hôte constant du gros intestin de l'homme et des animaux domestiques, qu'il se trouve en abondance dans les excréments de celui-là et de ceux-ci, sa présence dans le lait décèle à coup sûr la souillure de cet aliment par des matières excrémentitielles, et, de plus, elle signifie la possibilité que le lait peut avoir de véhiculer à un moment donné des germes pathogènes qui coexisteraient à côté du *colibacille*.

Quand l'analyse de l'eau permet d'y trouver le *bacille typhique*, le *B. coli* accompagne toujours ce dernier ; mais l'inverse n'est pas fatalement vrai. Une eau dans laquelle on décèle le *B. coli* est évidemment suspecte, mais elle ne contient pas obligatoirement le *Bacillus typhosus*. *A fortiori*, une eau sans *B. coli* est-elle également sans *B. typhique*.

Ces considérations sont également d'application stricte au lait ; leur importance ne saurait échapper à

l'hygiéniste soucieux de procurer du bon lait à l'enfance pour commencer.

Aussi la question de la contamination du lait par les matières fécales est-elle du plus haut intérêt, car si le lait est souillé, il est toujours suspect, en attendant qu'il puisse être dangereux.

A l'examen des échantillons de laits provenant des diverses régions qui approvisionnent Paris, Bordas a trouvé chez certains d'entre eux *un gramme* de matières excrémentitielles par litre et une richesse bactérienne de 20 millions de germes par centimètre cube.

On conçoit que de tels laits, si intensément souillés, d'une pareille richesse microbienne, *véritables dilutions d'excréments*, soient dangereux pour le fragile tractus gastro-intestinal des enfants et déclenchent brutalement chez ceux-ci des affections diarrhéiques à forme cholérique d'une extrême gravité. Et encore, nous ne parlons pas du risque, que nous serions tenté de dire presque fatal, que ces laits ont de contenir le bacille tuberculeux. Schroeder et Cotton, dans des expériences célèbres, ont établi que la contamination du lait des bêtes réagissant à la tuberculine, et qui ne présentent pas de lésions spécifiques mammaires, pouvait souvent se faire indirectement, par la chute dans le lait de matières excrémentitielles chargées de bacilles, régurgités après des efforts de toux. Et quand on sait le danger de la tuberculisation de l'enfant par la voie digestive avec le bacille bovin, on peut à bon droit être effrayé des conséquences tuberculigènes de la pollution du lait par les excréments.

Qu'a-t-on fait, en France, pour lutter contre une pareille situation? Rien, en réalité. La Belgique, la Hollande, le Danemark ont pris des mesures législatives tendant à enrayer la propagation de la tuberculose par le lait. En France, pays de faible natalité, l'on devrait s'appliquer à combattre non seulement les falsifications du lait, mais surtout ses souillures, causes chaque année de la mort de plusieurs dizaines de milliers de nourrissons allaités artificiellement.

Puisque, comme l'ont montré à Kufferath les essais qu'il a faits, en Belgique, dans les vacheries du Comité National à Nérom et à Boitsfort, et, comme nous l'avons vérifié nous-même sur des laits recueillis dans des vases stériles, après savonnage des mains et lavage du pis simplement à l'eau courante, on ne trouve *jamais du B. coli dans les laits proprement traités*, la recherche du *colibacille* s'impose dans l'examen des laits crus, afin d'en apprécier la valeur hygiénique.

2° Dans les laits pasteurisés. — Dans les laits pasteurisés, la présence du *B. coli* signifie : *insuffisance de l'opération ou contamination du lait après elle*¹.

Dans le but de vérifier les expériences de de Jong qui avaient établi que le *B. coli* et le *bacille tuberculeux*² sont plus résistants à la chaleur dans le lait que

¹ Les procédés de pasteurisation se ramènent à deux principaux :

1° On chauffe le lait pendant trente minutes à 63-65 degrés, et on le refroidit rapidement (pasteurisation basse) :

2° On chauffe le lait pendant deux à trois minutes à 80-85 degrés, et on le refroidit rapidement (pasteurisation haute) ;

² Le bacille tuberculeux est trouvé vivant dans la « peau » du lait après chauffage à 50 degrés pendant une heure (Smith).

dans le bouillon et l'eau, Ayers et Johnson ont chauffé des laitsensemencés de *B. coli* à 60 degrés pendant trente minutes : la moitié des souches résista, mais toutes furent tuées après chauffage à 65°6 pendant trente minutes.

Toutefois, disent de Jong et de Graaf¹, la certitude de tuer tous les *colibacilles* n'existe qu'avec une pasteurisation à 70-72 degrés pendant trente minutes, pas moins.

Pour Whittakere Hall, regrettant récemment la grande marge laissée aux Etats-Unis et au Canada, dans l'interprétation légale du lait pasteurisé, la température de 62 degrés est pratiquement suffisante. Elle élimine le *B. coli* et beaucoup de microbes ne résistant pas à 60°5, pendant trente minutes, à savoir : le *B. typhique*, le *B. diphtérique*, et le *B. de Koch*. (On sait que pour détruire les spores du *B. subtilis* il faut pousser jusqu'à 80 degrés.)

Ainsi le lait pasteurisé du commerce peut-il présenter plus de danger que le lait cru, attendu que, si dans celui-ci les ferments lactiques inoffensifs empêchent les ferments nuisibles, dans le lait pasteurisé les ferments lactiques sont tués, en raison de la température à laquelle le lait est porté ; aussi ce dernier n'est plus protégé contre la pullulation des bacilles à spores, dont certains (Flügge) sont capables de produire des toxines nuisibles.

¹ En Californie, une loi du 1^{er} octobre 1916 fait de l'absence du *B. coli* comme un critérium de la bonne pasteurisation du lait.

3° Dans les laits stérilisés. — Naturellement, en raison des températures de stérilisation, le *B. coli* n'y doit jamais subsister.

II. SA RECHERCHE

La recherche du *bacille coli* dans le lait comprend :

1° Des essais préliminaires ou essais de fermentation;

2° Des recherches bactériologiques qualitatives et quantitatives.

1° Essais de fermentation. — Les ferments lactiques appartenant au groupe *coli* provoquent presque toujours la formation de gaz; ils agissent le plus souvent de façon très défavorable sur l'odeur et le goût du lait. On les décèle assez aisément, mais très grossièrement, par l'épreuve dite de fermentation (Löhnis).

On verse dans des gros tubes à essais 50 centimètres cubes de lait et on les porte au bain-marie à 40 degrés. On les examine entre douze et quarante-huit heures. Après douze heures, le lait proprement recueilli n'est pas modifié.

Le lait contenant du *B. coli* et certains autres germes d'origine excrémentitielle est coagulé. Le caillot plus ou moins soulevé est dilacéré, fragmenté par les gaz dégagés et collectés quelquefois sous forme de bulles assez grosses; l'odeur n'est pas très agréable.

Au contraire, quand le lait coagule sous l'action des ferments lactiques normaux, son caillot est massif, non déchiqueté, homogène, ferme, gélatineux et l'odeur aigrette est agréable.

Kufferath admet que les laits contenant du *B. coli* et qui ne donnent pas de bulles de gaz à 37 degrés ne sont que faiblement contaminés.

2° Recherche bactériologique du *B. coli* dans le lait. — Les procédés de recherche sont nombreux et généralement calqués sur ceux qui sont employés pour l'eau ; cependant ils ne conviennent qu'imparfaitement ; ils sont plus longs et moins exacts.

Le *colibacille* se multipliant rapidement dans le lait¹, ce qu'il ne fait pas dans l'eau, sa numération, quand elle est bien faite, n'a qu'une valeur toute relative. Nous en discuterons, après en avoir étudié un microbe voisin, le *B. lactis aerogenes*.

Quels sont actuellement les procédés employés par les bactériologistes pour rechercher le *colibacille* dans le lait ?

Disons, avant tout, qu'en France cette investigation n'a jamais été ni préconisée, ni tentée, et cependant elle paraît de première importance. C'est pourquoi M. le professeur Ch. Porcher, sachant ce qui avait été fait à l'étranger dans cette voie, nous a engagé à entreprendre cette étude pour appeler l'attention des hygiénistes français sur cette question.

Si les méthodes de recherche du *colibacille* dans l'eau sont, en France, de pratique courante dans les Laboratoires d'Hygiène, leur application au lait n'a

¹ A 37 degrés, un lait cru contenant^o après la traite 3 *B. coli* par centimètre cube, en contient 100, sept heures après (Harrison et Vanderleck).

jamais été tentée; aussi, celles que nous allons mentionner dans ce travail sont-elles de source américaine, anglaise ou allemande.

Elles comprennent habituellement :

1° *Des essais de présomption;*

2° *Des épreuves de confirmation.*

Les *essais de présomption* reposent sur la méthode dite d'enrichissement.

On s'efforce à cultiver le germe recherché dans un bouillon aussi électif que possible, rendu favorable à son développement et nuisible à celui des espèces qui peuvent l'accompagner, par l'adjonction de certains antiseptiques (bile, acide phénique, etc.).

Dans les *épreuves de confirmation*, on se propose d'isoler sur milieu solide le germe qui a décelé sa présence dans le milieu d'enrichissement. On termine l'identification par l'examen microscopique du microbe et sa culture en différents milieux.

Les milieux d'enrichissement couramment employés pour la recherche du *B. coli* dans le lait sont les *milieux sucrés* (lactosés, avec ou sans addition de sels biliaires), les *milieux à l'esculine*, les *milieux phéniqués*.

L'isolement se fait sur les milieux usités habituellement pour la recherche du *colibacille* : gélose lactosée-tournesolée, simple ou phéniquée (Chantemesse), gélose de Drigalski-Conradi, gélose d'Endo, qui pourra être additionnée de 0,4 pour 1000 d'acide phénique (Dienert), gélose lactosée minéralisée de Kufferath, dont nous donnons plus loin la formule,

ainsi que celle de la gélose au rouge neutre et aux sels biliaires et de la gélose à l'esculine, plus spécialement utilisées en bactériologie laitière.

Si l'on veut se rendre compte du pourcentage du *B. coli* par rapport au nombre total des bactéries contenues dans un échantillon de lait¹, on fera directement des plaques pour numération sur gélose² ou gélatine, comme pour l'eau. On prendra soin, s'il s'agit de laits du commerce, de faire plusieurs dilutions au 1/10.000^o et au 1/100.000^o. Pour les laits stérilisés et

¹ Kufferath s'arrête aux chiffres suivants dans l'estimation des bactéries :

Les laits stérilisés et pasteurisés sur gélose à 37 degrés après trois jours ne doivent donner que 0 à 100 germes par centimètre cube et 0 *bacille coli*.

Les laits crus et aseptiques (pour vieillards et enfants) : 0 à 1.000 germes par centimètre cube et 0 *bacille coli*.

Les laits ordinaires : moins de 10.000 germes par centimètre cube.

² La gélose et la gélatine ordinaire sont avantageusement remplacées en bactériologie laitière par la *gélose* et la *gélatine au petit lait* (sérum). Les microbes du lait y poussent particulièrement bien. Le lait préalablement écrémé est coagulé à 40 degrés, avec une dose suffisante de présure; après découpage du caillé, on recueille le sérum qu'on clarifie à l'autoclave à l'aide d'un blanc d'œuf. On y ajoute 1,5 pour 100 de gélose ou 12 à 15 pour 100 de gélatine.

Orla-Jensen recommande le milieu suivant :

Eau ordinaire	1 litre
Chlorure de sodium	2 grammes
Phosphate dipotassique	2 —
Sulfate de magnésium	1 —
Glucose	10 —
Peptone de Witte.	20 —

On solidifie à l'aide de gélose ou de gélatine aux titres indiqués ci-dessus. Pour déceler facilement les bactéries produisant de l'acide aux dépens du lactose, on incorpore au milieu une quantité suffisante de teinture de tournesol *bleue*, et non la teinture sensibilisée employée comme indicateur en chimie.

pasteurisés, onensemencera directement 1 centimètre cube de lait ; avec les laits pasteurisés restés très microbiens malgré l'action de la chaleur ou pollués après pasteurisation, on diluera au 1/100^e ou au 1/1000^e, quelquefois davantage.

1^o Milieux lactosés.

Le lactose a été choisi pour la recherche du *B. coli* dans le lait, à la place du glucose, parce qu'il existe dans le lait d'autres microbes que le *B. coli* qui font fermenter le glucose avec production de gaz.

E. R. Stitt, de Londres, procède comme suit pour ses *analyses d'eau* :

On ensemence en même temps dans une première série de tubes à fermentation Durham (tubes à clochette) contenant du bouillon glucosé, et dans une deuxième série des mêmes tubes contenant du bouillon lactosé à 0 gr. 5 pour 100, des quantités croissantes d'eau, de 1 centimètre cube à 10 centimètres cubes. On porte à l'étuve à 37 degrés pendant quarante-huit heures. La réaction est considérée comme positive quand, pour une quantité d'eau ensemencée, il existe des bulles gazeuses à la fois dans les tubes contenant du glucose et dans les tubes contenant du lactose.

Si, par exemple, les deux tubes ensemencés avec 10 centimètres cubes contiennent des gaz quand les autres tubes ensemencés avec moins de 10 centimètres cubes n'en contiennent pas, *on admet* que l'eau renferme au moins un *B. coli* pour 10 centimètres cubes, soit 100 par litre. Afin d'obtenir une identification complète, il faut repiquer la culture des tubes positifs sur milieux solides pour *B. coli* (gélose d'Endo, gélose lactosée-tournesolée, etc.).

Quand, sur ces plaques, des colonies ressemblant à celles de *colibacille* se sont développées en moins de vingt-quatre heures, il faut en repiquer une, typique, dans un tube à fermentation contenant du bouillon lactosé, et porter à l'étuve à 37 degrés pendant quarante-huit heures.

Pour l'examen du lait en vue de la recherche du *colibacille*, J. Race recommande un milieu contenant :

- 0 gr. 8 pour 100 de lactose.
- 3 à 4 grammes pour 100 de peptone.
- 0 gr. 6 pour 100 de chlorure de potassium
et de réaction légèrement acide.

On fait avec le lait expertisé des dilutions telles, que les quantitésensemencées soient de 0 cc. 001, 0 cc. 01, 0 cc. 1, etc. La culture des tubes contenant des gaz est repiquée pour identification sur milieux solides (« Rebi-pelagar »), mais dans la pratique, et si l'on s'est servi de tubes à fermentation, on pourra se contenter de considérer comme positifs les tubes montrant plus de 5 pour 100 de gaz dans la branche fermée du tube.

Méthode Stewart. — Dans les essais de présomption pour déceler le *B. coli* dans l'eau et le lait, Anglais et Américains emploient beaucoup le bouillon de bile lactosé (tube L. B. B.), dont le principe remonte à Jackson et Muer (1906), et qui est aussi à la base de la méthode française Grýsez et Pierret.

Le milieu L. B. B. se prépare en ajoutant 1 gramme pour 100 de peptone et 1 gramme pour 100 de lactose à de la bile de bœuf fraîche.

Les tubes contenant du *B. coli* montrent le plus souvent des gaz au bout de quarante-huit heures, mais il est bon d'aller jusqu'à soixante-douze heures.

Race reproche à cette méthode d'empêcher la croissance de nombreuses variétés qu'il estime encore vigoureuses du *B. coli*; au contraire, les tubes de son bouillon lactosé fermenteraient même sous l'action de colibacilles « atténués »¹.

Toutefois, Race ne peut refuser d'admettre que le bouillon lactosé simple qu'il préconise favorise la pululation des bactéries lactiques acidophiles au détriment de celle du *B. coli*; pour éviter ce reproche, on doit faire des dilutions telles que la méthode n'est plus pratique.

Méthode au violet de gentiane. — Ivan-C. Hall et Lillian Jordan Ellefson, de l'Université de Californie, montrant, après Creel (1914), que beaucoup d'*anaérobies* donnant des spores, contenus dans l'eau et dans le lait, peuvent donner des gaz aux dépens du lactose, et venir ainsi fausser les essais de présomption pour *B. coli*, veulent éliminer ces organismes en ajoutant au bouillon lactosé du violet de gentiane dans la proportion de 1 pour 100.000 à 1 pour 20.000. Les cultures de tous les tubes montrant une bulle de gaz ou

¹ Hall et Ellefson disent n'avoir jamais rencontré dans le lait de colibacilles « atténués », donnant de l'acide et des gaz à l'essai de fermentation, et ne rougissant pas la gélose lactosée-tournesolée à l'essai confirmatif. Sans doute, le séjour du *B. coli* dans le lait, où il trouve une alimentation plus que suffisante pour renforcer sa vitalité, expliquerait cette constatation.

plus sont repiquées sur gélose lactosée-tournesolée, contenant 1 pour 100.000 de violet de gentiane.

Cette méthode élimine la plupart des aérobies faisant fermenter le lactose et beaucoup d'aérobies ou anaérobies prenant le Gram et ayant la même action sur ce sucre. Elle restreint ainsi le champ d'investigation du *B. coli*.

Si l'on veut l'appliquer au lait, ces auteurs recommandent d'ensemencer dans 20 centimètres cubes de bouillon 1 centimètre cube de lait, au lieu de 10 centimètres cubes d'eau.

Elle élimine du lait les *cocci* qui font fermenter le lactose avec gaz et la plupart des *streptocoques*, producteurs d'acide, formant des colonies rouges sur gélose lactosée-tournesolée.

Gélose minérale lactosée de Kufferath. — C'est un bon milieu d'isolement du *colibacille*, pour le lait comme pour l'eau. Il y pousse abondamment, en colonies crémeuses caractéristiques, alors que les autres germes (certains staphylocoques des eaux et du lait) s'y développent mal, mais il y meurt bientôt. Le *B. coli* y affecte une forme allongée en huit caractéristique.

On prépare ce milieu de la façon suivante :

Faire une solution minérale avec :

Eau distillée	200 cc.
Phosphate bipotassique	1 gr. 5
Nitrate d'ammoniaque	20 gr.
Carbonate de soude	2 gr.

Sulfate de soude.	2 gr.
Sulfate de magnésie	3 gr. 5
Sulfate de potasse	o gr. 5

Bien l'agiter, en prélever 50 centimètres cubes et y ajouter :

Eau de ville	950 cc.
Lactose.	15 gr.
Gélose	15 gr.

Passer à l'autoclave pour faire fondre la gélose. Répartir en tubes, stériliser à 120 degrés pendant vingt minutes.

2° Milieux à l'esculine.

L'esculine est un glucoside extrait du marron d'Inde.

Il se colore en noir, en présence des sels de fer, ainsi que d'autres glucosides, l'indican végétal en particulier, sous l'influence du *colibacille*¹. On l'utilise en bouillon et en milieux solides.

a) Avec l'esculine en *bouillon*, Löhnis recherche le *colibacille* dans le lait, comme dans l'eau, de la façon suivante :

Préparer un bouillon² avec :

Esculine	o gr. 5 pour 1000
Citrate de fer	o gr. 5 pour 1000

¹ Il se forme du glucose et de l'esculétine, diphénol complexe qui, en présence de citrate ferrique, produit une coloration brune ou noirâtre, selon la réaction du milieu. L'addition de glucose au milieu empêche la réaction. (Van Steenberg.)

² Ce bouillon n'est pas stérilisable à l'autoclave.

Avec le produit à examiner, faire des dilutions suffisantes dans ce bouillon, et noter pour quelle dilution on observe encore le noircissement du milieu.

Cet essai est un essai de présomption. On pourra repiquer un peu de la culture des tubes positifs sur le milieu d'isolement suivant.

b) L'emploi de l'esculine en *milieu solide* a été décrit par Harrisson et Vanderleck.

Leur milieu *Æsculin Bile Salt* est ainsi préparé :

Dissoudre dans 100 grammes d'eau : 1 gramme de peptone de Witte, 0 gr. 25 de sels biliaires, 1 gr. 5 à 2 grammes de gélose.

Neutraliser avec un alcali. Coaguler avec du blanc d'œuf et filtrer. Ajouter : 0 gr. 2 de citrate de fer, 0 gr. 1 d'esculine.

Cette quantité de citrate de fer doit donner une légère acidité et produire un peu de fluorescence du milieu.

Le *B. coli* et le *B. lactis aerogenes* donnent des colonies noires entourées d'un halo noir.

Ce milieu a été préféré au « Rebipelagar », que nous allons décrire, par les bactériologistes de l'*American Health Association*¹.

¹ Selon J. Race le « Rebipelagar » est plus facile à préparer et à employer que les milieux d'Endo et de Drigalski-Conradi. Il faut remarquer toutefois que l'esculine n'est pas toujours colorée en noir par le *B. coli* et qu'elle ne l'est pas exclusivement par ce bacille. D'autres microbes, en effet, donnent la réaction : d'abord le *B. lactis aerogenes*, puis le *B. proteus*, les *bacilles dysentériques*, les *bacilles typhiques* et *paratyphiques*, enfin diverses *levures* susceptibles d'être rencontrées dans le lait.

3° Milieux au rouge neutre.

Le milieu suivant est indiqué par Race comme un bon milieu d'isolement du *B. coli* dans le lait.

Rebipelagar (Agar - sels biliaires - rouge neutre).

Gélose	20 gr.
Peptone	20 gr.
Sels biliaires du commerce	5 gr.
Eau.	1.000 cc.

Chauffer ces produits à l'autoclave jusqu'à complète dissolution; titrer avec un alcali et amener la réaction à une légère acidité à la phénolphthaléine. Chauffer à 45 degrés. Coaguler avec du blanc d'œuf (5 grammes dissous dans de l'eau); chauffer jusqu'à ébullition. Ramener aux proportions et filtrer. Répartir en tubes en quantités convenables après addition de 5 grammes de lactose et de 5 centimètres cubes d'une solution à 1 pour 100 de rouge neutre.

L'inconvénient de ce milieu tient au taux des sels biliaires qui, parfois, nuisent au développement du *B. coli*. Quand ils sont de bonne qualité, le *B. coli* doit y pousser à 37 degrés en vingt-quatre heures, sous forme de colonies molles et visqueuses de 3 à 5 millimètres de diamètre, rouges ou rosées, entourées d'une auréole jaunâtre, foncée, produisant un trouble dans le milieu environnant.

4° Milieux phéniqués.

Kufferath indique le procédé suivant :

Laisser incuber le lait à examiner à l'étuve à 37 degrés pendant vingt-quatre heures; puis, à l'aide d'un fil de pla-

tine, en repiquer un peu dans du bouillon phéniqué (par exemple du bouillon Vincent phéniqué à 0 gr. 85 pour 1000).

Laisser à l'étuve vingt-quatre heures et repiquer du bouillon trouble sur des tubes de gélose lactosée minéralisée, inclinée, de façon à isoler le colibacille par épuisement¹.

¹ Nous avons vu que le *colibacille* obtenu sur cette gélose se présente à l'examen microscopique avec un aspect spécifique, sous la forme d'un huit allongé par étranglement du bâtonnet, très grand, comparé au même microbe cultivé sur gélose au bouillon.

Pour avoir une certitude complète de l'identité du *colibacille* obtenu, on l'ensemence dans différents milieux, par exemple en eau peptonée, afin d'obtenir la réaction de l'indol, dans du lait et sur pomme de terre.

CHAPITRE II

LE *BACILLUS LACTIS AEROGENES* DANS LE LAIT

I. SA SIGNIFICATION

Comme le *B. coli*, le *B. lactis aerogenes* est une bactérie lactique de l'intestin (bactéries obligatoires d'Escherich); comme lui, il est susceptible d'exalter sa virulence dans certaines conditions et de devenir pathogène pour l'homme et les animaux. D'après Stitt, cependant, son pouvoir pathogène serait moins marqué que celui du *B. coli*.

C'est, on le sait, à la fois un proche parent du *colibacille* et une variété de *pneumobacille* de Friedlaender¹ (Grimbert). C'est un *paracolibacille*.

On le trouve communément dans le lait comme dans l'eau. D'après de récents travaux et dans l'opinion actuelle des bactériologistes américains, ce bacille se rencontre, comme le *colibacille*, dans les excréments humains et animaux (type fécal); mais le type le plus

¹ Le *B. lactis aerogenes* se différencie du *pneumobacille* par une production d'acide et de gaz en bouillon lactosé, et par la coagulation du lait.

répandu serait un saprophyte inoffensif des graines et du fourrage (type des graines). Il viendrait alors ensemencer le lait après la traite, apporté par les pous-sières de l'étable¹.

De toutes façons, et puisque les deux types existent (type fourrager, type fécal), aucune variété de *B. lactis aerogenes* ne doit figurer dans du lait proprement trait. Etant donné toutefois sa constante présence dans le fourrage, il est peut-être moins évitable dans le lait que le *B. coli*. Nous trouvons dans ceci l'indication formelle de faire la traite en dehors de toute distribution de fourrage.

Les Américains insistent beaucoup sur la différence qui existe entre le *B. lactis aerogenes* et le *B. coli*, organismes faisant tous deux fermenter le lactose, mais que certains caractères biologiques, que nous allons indiquer à propos de la recherche du *B. lactis aerogenes* dans le lait, permettent de séparer très nettement.

II. SA RECHERCHE

Les procédés d'isolement sont les mêmes que pour

¹ La même distinction serait à faire avec le *B. coli*. C'est ainsi que *C. Gorini* reconnaît deux sortes de *B. coli* : l'un, à pouvoir acidifiant élevé, fait coaguler le lait modifié par le chauffage et ayant acquis une teinte brune; l'autre n'agit que sur le lait ayant conservé sa teinte normale. Le premier de ces types serait surtout largement représenté dans le fourrage; l'autre se trouverait plus particulièrement dans les excréments.

La proportion variable de ces deux types dans le lait serait en rapport avec les différentes sources de contamination de ce produit.

le *B. coli*, mais la séparation des deux organismes est basée sur les points suivants :

1° Le *B. lactis aerogenes* est généralement plus court et plus épais que le *B. coli* ; il ne possède pas de cils, mais il est très souvent entouré d'une capsule dans les cultures sur lait ;

2° Il est immobile (mais il existe des *colibacilles* immobiles) ;

3° Il ne donne presque jamais d'indol (le *colibacille* type en donne toujours) ;

4° Il possède un pouvoir fermentatif plus élevé que le *B. coli* :

Le groupe *coli* produit, dans la fermentation du glucose, moins de gaz carbonique que d'hydrogène (deux tiers de H) ; c'est l'inverse pour le groupe *aerogenes* ;

Le groupe *aerogenes* donne de nombreuses bulles gazeuses en milieu amidonné (pomme de terre) ;

5° Le *B. lactis aerogenes* donne la réaction de Vosges-Proskauer¹, mais ne donne pas la réaction du rouge de méthyle de Clark et Lubs ;

6° Le *B. lactis aerogenes* ne fait pas fermenter la dulcité. (Le *B. coli* y donne des colonies rouges.)

Pratiquement le diagnostic différentiel portera sur :

1° L'aspect microscopique, la mobilité ou l'immobilité ;

¹ Cette réaction repose sur l'oxydation de l'acétyl-méthyl-carbinol, formé par l'action des bactéries sur le sucre dans les milieux de culture, en diacétyle, lequel, en présence des alcalis et des matières protéiques, donne un composé rouge violet, avec une fluorescence verte.

Caractères biochimiques des organismes du groupe coli-typique (d'après RACE).

— 37 —

GROUPES	LAIT TOURNESOLÉ		INDOL	SORBITE	MANNITE	DULCITE	GLYCÉRINE	SALICINE	INULINE	DEXTRINE	RAFFINOSE	SACCHAROSE	LACTOSE	MALTOSE	GALACTOSE	LEVULOSE	GLUCOSE	GÉLATINE	MOBILITÉ	
	TÔT	TARD																		
Groupe ESCHERICH																				
<i>B. coli communis</i>	Acide	Acide	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Acide
<i>B. coli communior</i>	Acide	Acide	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Acide
<i>B. lactis aerogenes</i>	Acide	Acide	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Acide
<i>B. acidi lactici</i>	Acide	Acide	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Acide
<i>B. cloacæ</i>			+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Groupe GÄERTNER																				
<i>B. enteritidis</i>			—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+	+	+	—	+	Alcalin
<i>B. paratyphique A.</i>	Acide		—	—	—	+	—	×	—	×	—	—	—	+	+	+	+	—	+	Alcalin
<i>B. paratyphique B.</i>	Acide		—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	Alcalin
<i>B. cholerae suum</i>	Acide		—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	Alcalin
<i>B. suispestifer</i>			—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	Alcalin
<i>Morgans n° 1</i>			—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	Alcalin
Groupe EBERTH																				
<i>B. typhique</i>	Acide		—	×	×	—	—	—	—	×	—	—	—	×	×	×	×	—	+	Acide
<i>B. dysentérique (Shiga)</i>	Acide		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	×	×	×	—	—	Alcalin
<i>B. dysentérique (Flexner)</i>	Acide		—	—	×	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Alcalin
<i>B. fœcalis alcaligenes</i>	Alcalin		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Alcalin

Milieux aux bouillons sucrés.— Légende : + == production gaz ; × == production d'acide sans gaz ; — == pas de changement

Milieux aux bouillons sucrés. — Légende : + = production gaz ; × = production d'acide sans gaz ; — = pas de changement

2° L'aspect des colonies sur gélatine : celles du *B. aerogenes* sont presque rondes, porcelanées ; celles du *B. coli* sont plutôt en forme de feuille, surtout quand le développement est avancé (Löhnis) ;

3° L'aspect de la culture sur pomme de terre ;

4° La présence ou l'absence d'indol en eau peptonée ;

5° La coloration bleue ou rouge des colonies sur gélose tournesolée à la dulcité.

Les bactériologistes américains classent dans le tableau ci-contre, d'après leurs principales actions biochimiques, les principaux germes du groupe *colityphique* et *paratyphique*.

*
* *

COUP D'ŒIL D'ENSEMBLE SUR LA RECHERCHE DES ORGANISMES DU GROUPE *COLI-AEROGENES* DANS LE LAIT

Les méthodes courantes de recherche du *B. coli* dans l'eau sont habituellement à la fois qualitatives et quantitatives ; sont telles, la méthode Rochaix au rouge neutre et la méthode Vincent, utilisée au Val-de-Grâce.

Elles permettent de déterminer aussi approximati-

¹ Rogers note que le *B. lactis aerogenes* provenant d'excréments humains fait fermenter l'*adonite*, peut donner une réaction de l'indol positive et que 60 pour 100 de ces bacilles font fermenter l'amidon.

Le groupe *aerogenes* des fourrages fait rarement fermenter l'*adonite* et est moins actif que les espèces d'origine fécale dans la fermentation du *saccharose* et de l'*amidon*.

vement qu'il est possible, et avec plus ou moins de spécificité, le nombre de *colibacilles* par centimètre cube d'eau.

En effet, le *colibacille* se développe peu ou pas dans l'eau, et il est intéressant, pour ne pas dire obligatoire, de l'y dénombrer. La même exigence se pose-t-elle pour le lait?

Sur ce point, les auteurs ne sont pas d'accord du fait que le lait est un excellent milieu de culture pour le *B. coli* qui s'y développe abondamment.

On a voulu, pour établir le degré de contamination du lait, y compter le *colibacille*, par exemple immédiatement après la traite, ou plusieurs heures après, afin de savoir si le lait a été refroidi immédiatement, et aussi s'il est susceptible d'être conservé. Mais, avec raison, Ayers estime qu'un grand nombre de *B. coli* dans un échantillon de lait cru signifie tout aussi bien des conditions d'entreposition défavorables qu'une contamination initiale.

De sorte que, si la numération n'est pas faite immédiatement après la traite, elle ne pourra pas donner plus de renseignements sur les conditions de la traite qu'une simple épreuve qualitative. Effectuée plus tard, elle ne signifiera rien de plus que la numération globale des microbes du lait.

Afin de simplifier le travail, les hygiénistes américains ne font pas, lors de la numération, de différence entre les organismes du groupe *B. coli* et ceux du groupe *B. lactis aerogenes*, puisque les deux groupes sont également indésirables.

CHAPITRE III

LES STREPTOCOQUES DANS LE LAIT

I. LEUR SIGNIFICATION

A. Dans le lait cru. — Comme le *B. coli* et le *B. lactis aerogenes*, et mieux qu'eux peut-être, les *streptocoques* du lait ont diverses sources et, si Orla-Jensen pense que certains d'entre eux trouvés dans l'intestin des herbivores passent dans le sang circulant, puis de là dans le lait, on peut dire d'une façon générale que *les streptocoques ne viennent ensemen- cer le lait qu'après la mulsion.*

On les rencontre dans le sol, sur les végétaux, dans les urines, la salive, les excréments ¹ de la vache, dans le vagin, sur la peau et sur le pis. Ils viendront contaminer le lait de la même façon que les microbes du groupe *coli*.

Aussi, certains hygiénistes ont-ils, depuis longtemps, proposé d'exclure du marché les laits contenant des *streptocoques*; d'autres, de dénombrer ces microorga-

¹ Les excréments de vache contiennent de 100,000 à 10,000,000.000 de streptocoques par gramme (Race).

nismes dans le lait, afin de mesurer le degré de contamination de cet aliment. Mais maintenant qu'il est établi que le lait proprement recueilli renferme toujours des *streptocoques* qui trouvent en lui un excellent milieu de culture, il devient difficile d'en faire des « tests » de contamination du lait. Il faut reconnaître, il est vrai, que des distinctions nécessaires doivent être établies entre les divers streptocoques susceptibles d'être rencontrés dans le lait ; il en résultera que certains d'entre eux pourront servir, mieux que les autres et à leur exclusion, de « tests » de valeur. Tel est le cas pour le *streptocoque lactique glaireux* de Violle.

Le plus grand nombre des *streptocoques* rencontrés sont des lactiques, banaux pour ainsi dire, en quelque sorte inévitables et non pathogènes. Kufferath va même jusqu'à considérer leur présence comme favorable.

Le *Streptococcus lacticus*, à chaîne courte, composée de deux grains, quelquefois trois, rarement plus, et que l'on trouve dans tous les échantillons de lait, est employé industriellement pour la maturation de la crème et la fermentation des fromages, et aussi comme agent thérapeutique. Il est caractérisé par un pouvoir fermentatif élevé et un pouvoir pathogène insignifiant ou nul¹ (Race).

¹ Heinemann a montré que le *Str. lacticus* se trouve constamment dans le lait, où il n'est pas pathogène, mais qu'après plusieurs passages par le lapin il devient virulent et peut-être mortel pour l'animal.

A mesure que la virulence augmente, le pouvoir fermentatif diminue.

La détermination du pouvoir fermentatif des *streptocoques* du lait pourrait alors renseigner sur leur origine, comme il en serait aussi pour les différentes races de *colibacilles*.

Un autre type de streptocoque, cette fois *dangereux*, est le *streptocoque de la mammite contagieuse* des vaches laitières de Nocard et Mollereau, ou *Streptococcus mastitidis* (Guillebeau). Il rentre dans le groupe du *Streptococcus pyogenes*. Mis en culture, il donne toutes les réactions du *streptocoque pyogène* de l'homme et des animaux. Il peut être pathogène. Savage lui attribue un rôle important dans l'étiologie de certaines angines (*Str. anginosus*), pouvant se compliquer d'infections articulaires (Jackson). Kufferath signale dans son entourage (1921) un cas d'entérite mortelle dû à l'ingestion de lait contaminé par ce *streptocoque*.

Il n'est pas pathogène pour la souris, généralement pas pour le cobaye ; injecté dans le pis de la vache, il reproduit la mammite contagieuse.

D'autres streptocoques, fréquents dans le lait, sont : le *Str. thermophilus*, le *Str. cremoris*, le *Str. bovis*, etc., etc.

Devant la difficulté d'identifier avec certitude les streptocoques rencontrés dans le lait, Race conseille d'en déterminer seulement le nombre au microscope, d'une façon approximative, sur une préparation colorée ; seul, un nombre excessif de chaînettes a pour lui quelque signification.

B. Dans les laits pasteurisés et stérilisés. — Ayers et Johnson ont étudié la résistance à la pasteurisation de plusieurs espèces de *streptocoques* présents dans le lait (*streptocoque* des fèces, de la mammite, de la bouche de la vache, *streptocoques lactiques* banaux du lait et de la crème).

Tous sont tués par un chauffage à 73°8 pendant trente minutes, alors qu'à 60 degrés, température la plus basse utilisée par la pasteurisation, plus de 50 pour 100 résistent.

De tous les *streptocoques* examinés, les moins résistants sont ceux de la mammite (Ayers et Jonhson).

Comme pour le *colibacille*, la recherche des *streptocoques* dans les laits pasteurisés, et mieux encore dans les laits stérilisés, fournira des renseignements très importants.

II. LEUR RECHERCHE

Elle comporte :

- a) *La centrifugation du lait;*
- b) *Des examens microscopiques ;*
- c) *Desensemencements.*

a) *La centrifugation* (Löhnis) Cette épreuve permettra également l'examen microscopique, sur préparations colorées, de microbes autres (bacille tuberculeux, par exemple), de moisissures, de débris divers traduisant la saleté du lait; cet examen remplacera très souvent la numération des germes sur plaque, trop longue et insuffisante à elle seule.

On verse 10 centimètres cubes de lait bien agité, chauffé à 60-70 degrés, dans de petits tubes à essai (tubes de Trommsdorf) rétrécis à leur extrémité inférieure en un tube capillaire gradué au 1 millième de centimètre cube, et on centrifuge pendant cinq minutes environ. La vitesse doit être suffisante pour déterminer la formation d'un dépôt compact

qui reste adhérent au verre lorsqu'on décante le lait (1.200 tours par minute). S'il est nécessaire, on répétera la centrifugation.

Le lait normal laisse déposer un sédiment de 0 cc. 002 à 0 cc. 004 (2 à 4 divisions), tandis qu'un lait de vache atteinte de mammite donne un dépôt de 0 cc. 01 et plus (10 divisions) (Orla-Jensen).

Le lait sale contenant des matières excrémentitielles, des débris de terre, de végétaux, donne un sédiment gris ou brun; celui qui est près de devenir acide, un dépôt blanc (caséine). S'il s'agit de lait fourni par des animaux atteints d'une inflammation de la mamelle, le dépôt est souvent abondant et jaunâtre.

Le lait ayant été décanté, on fera avec un peu du sédiment un frottis qu'on colorera.

b) *Examens microscopiques* (Kufferath).

Etaler au moyen d'une pipette stérile, un vingtième de centimètre cube de lait sur une lame porte-objet (format anglais). Dessécher à l'étuve à 100 degrés. Après refroidissement, colorer au bleu de méthylène phéniqué. Laver doucement à l'eau en ménageant la pellicule de lait. Sécher et examiner à l'immersion.

On recherchera sur la préparation : 1° les *leucocytes*; 2° les *streptocoques*.

1° Les *leucocytes*, dont le taux normal dans le lait de vache est de 500.000 à 1.500.000 par centimètre cube, augmentent dans les mammites.

2° Le *streptocoque de la mammite* forme de longues chaînettes d'éléments arrondis, légèrement aplatis transversalement, parfois de grandeur irrégulière. Les

chaînettes peuvent être remarquablement longues et former comme un véritable chevelu ; elles sont enroulées en pelotes irrégulières, formant avec les leucocytes englobés des masses compactes agglomérées.

Généralement une gaine gélatineuse très nette entoure les filaments streptococciques.

Les *streptocoques lactiques* ont une forme typique (*cocci* allongés, *généralement par deux*) (Race).

Pour Kufferath cependant, le *streptocoque de la mammite* peut affecter les formes courtes (chaînes de deux à huit *cocci*). La forme longue se remarquerait au début de l'affection et à son apogée.

Le *streptocoque lactique glaireux* de Violle se présente, soit sous forme de longues chaînettes, comme les *streptocoques pyogènes*, soit sous celle de diplocoques ressemblant parfaitement à des pneumocoques. Il est entouré d'une capsule mucilagineuse, bien mise en évidence dans les cultures du lait, par la fuchsine de Ziehl.

La fuchsine ne teinte pas la capsule qui se détache ainsi sur la préparation colorée en rose (éléments du streptocoque et caséine),

Ce streptocoque indique toujours :

1° Une contamination du lait après la traite, contamination naturelle (terre, végétaux, excréments) ou artificielle (par mouillage du lait) ;

2° L'insuffisance de la pasteurisation, puisque la pasteurisation à 60 degrés pendant vingt minutes le détruit¹ (Violle).

¹ Kufferath signale au sujet de la coloration, par sa méthode, des

c) *Ensemencements*. — Löhnis indique dans son *Précis de Bactériologie agricole* le bouillon suivant comme un bon milieu de culture du *streptocoque de la mammite* :

Bouillon ordinaire	100 grammes.
Caféine	0 gr. 5 à 1 gr.

On yensemence un peu du dépôt de centrifugation. On fait ensuite un examen microscopique de la culture.

*
* *

COUP D'OEIL D'ENSEMBLE SUR LA RECHERCHE DES STREPTOCOQUES DANS LE LAIT

**Leurs deux principales variétés : *streptocoques lactiques*,
streptocoques pyogènes.**

Les *streptocoques* du lait sont nombreux et encore mal connus et pourtant de nombreux travaux ont paru à leur sujet; les plus récents sont ceux d'Orla-Jensen et de Jones.

microbes sur frottis de lait, la particularité suivante, intéressante pour l'examen des laits pasteurisés et stérilisés.

Tandis que les microbes qui se sont développés dans les laits ordinaires sont colorés en bleu noir par le bleu de méthylène phéniqué, les microbes des laits stérilisés et pasteurisés ne se colorent plus, mais apparaissent brillants, comme dans les préparations à l'encre de Chine.

On saura de cette façon si le lait, examiné après traitement par la chaleur, contenait originellement beaucoup ou peu de germes.

Quand des microbes poussent dans le lait stérilisé, ils se colorent énergiquement et c'est un signe défavorable (Kufferath).

Nous allons brièvement décrire les espèces les plus communes de ces *streptocoques* en ne retenant que les principaux caractères sur lesquels les auteurs soient d'accord. Nous chercherons surtout à différencier les *streptocoques lactiques vrais* de ceux que l'on considère comme pathogènes pour l'homme et les animaux (*streptocoques pyogènes*).

A. Morphologie et caractères généraux.

La longueur ou la brièveté des chaînes ne sont pas caractéristiques ; la présence ou l'absence de capsules non plus.

I. SE PRÉSENTENT HABITUELLEMENT EN LONGUES CHAINES :

a) *Str. mastitidis* (Guillebeau) qui se décolore incomplètement par la méthode de Gram et pousse bien à 43 degrés (streptocoque de la mammite). Comme *Str. cremoris* il fait fermenter : saccharose, maltose, dextrine.

b) *Str. pyogenes* qui peut être pris pour type de nombreux streptocoques pathogènes, ne coagulant par le lait (Orla-Jensen).

c) *Str. cremoris* utilisé pour la maturation de la crème dans la fabrication du beurre ; il forme de longues chaînes dans le lait, croît de préférence à 25-30 degrés, mais non à 37 degrés.

II. SE PRÉSENTENT HABITUELLEMENT EN DIPLOCOQUES :

d) *Str. lactis*, *B. lactis acidi* (Leichmann) cultivant dans le lait aigri à la température ordinaire, et ne poussant plus au delà de 38-40 degrés. Sa forme en diplocoques est à rechercher dans le lait (Orla-Jensen).

e) *Str. faecium*. Très fréquent dans les excréments des mammifères et le lait aigri ; il possède une forme en diplocoque typique et pousse même à 50 degrés.

III. SE PRÉSENTENT SOUS DIVERSES ESPÈCES :

f) *Str. liquefaciens*. Hôte des laits aigris qui liquéfie la gélatine et donne un goût amer au fromage. Sa température maxima de culture est d'environ 45 degrés.

g) *Str. Troili-Petersson* (*B. lactis longi*), identique à *Str. hollandicus* (Weigman) et qui, comme lui, rend le lait visqueux. Ces streptocoques ne donnent pas de gaz en milieux glucosés.

h) *Str. thermophilus* facilement isolable du lait qui a été porté à une haute température. Son optimum de culture est 40 degrés.

D'une façon générale, les *streptocoques lactiques vrais* ont leur optimum de développement et de production d'acide à 20-22 degrés. Les *streptocoques de la mamelle* préfèrent la température de 38 degrés (Jones).

Pour Rogers, pour Clark et Evans, la présence dans le lait de streptocoques formant des chaînes longues à 37 degrés, après ensemencement en bile lactosée, permet de conclure que le lait provient de mamelles infectées. Toutefois ces auteurs font remarquer que des mamelles peuvent contenir des *streptocoques du type pyogène* sans présenter de signes objectifs cliniques d'infection.

Kufferath signale encore que le *streptocoque de la mammite* pousse sur gélose en gouttelettes de rosée, en affectant la forme de diplocoques, et en longues chaînettes ressemblant à celles du *streptocoque pyogène humain* dans l'eau de condensation, ainsi que dans le bouillon de viande.

De plus, alors qu'en bouillon les *streptocoques lactiques* banaux produisent un trouble abondant et persistant, le *streptocoque de la mammite* donne, et seulement après quelques jours, un léger dépôt blanchâtre, le liquide surnageant restant limpide.

Pour Jones, les *streptocoques lactiques* diffèrent des *streptocoques de la mamelle* et de ceux que l'on trouve dans la mastite, en ce que ces derniers, ensemencés dans du lait

en même temps que les streptocoques lactiques, se développent d'une façon prédominante pendant les premières vingt-quatre heures ; après quarante-huit heures, ce sont les lactiques qui dominent.

B. Liquéfaction de la gélatine.

Le *Str. liquefaciens* liquéfie très nettement la gélatine (*Str. coli gracilis*, Escherich), alors que le *Str. acidi lactici* (Burri et Müller) la liquéfie lentement.

C. Coagulation du lait.

Les *streptocoques lactiques* coagulent le lait à l'exception du *Str. pyogenes* (Orla-Jensen), du *Str. képhir* (Migula) et du *Str. lactis innocuus* (Löhnis).

Le *Str. mastitidis* le coagule assez lentement, et en produisant une certaine quantité d'acide lactique (Orla-Jensen).

Le *Str. acidi lactici* le coagule sans le rendre acide et le caillot est homogène.

D. Action fermentative sur les sucres.

D'après Shermann et Albus.

1° Les *streptocoques lactiques* n'attaquent presque jamais le saccharose.

2° Les *streptocoques pyogènes* l'attaquent.

Jones différencie surtout par ce caractère les streptocoques lactiques vrais des streptocoques que l'on trouve dans la salive, les fèces, le vagin, et sur la peau des vaches.

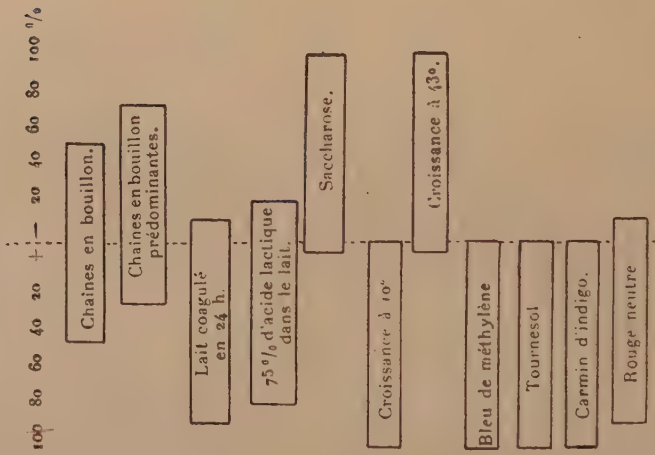
Parmi les lactiques vrais, il établit trois classes :

a) Les plus nombreux font fermenter le glucose, le lactose, le maltose, la mannite, la salicine, mais n'attaquent pas le saccharose, le raffinose, l'inuline : *Str. lacticus I*;

b) Moins nombreux, ceux du type *Str. lacticus II*, qui font fermenter le saccharose, le glucose, le lactose, la mannite, la salicine.

c) Quelques-uns ne touchent pas à la mannite.

Streptococcus lacticus



Streptococcus pyogenes

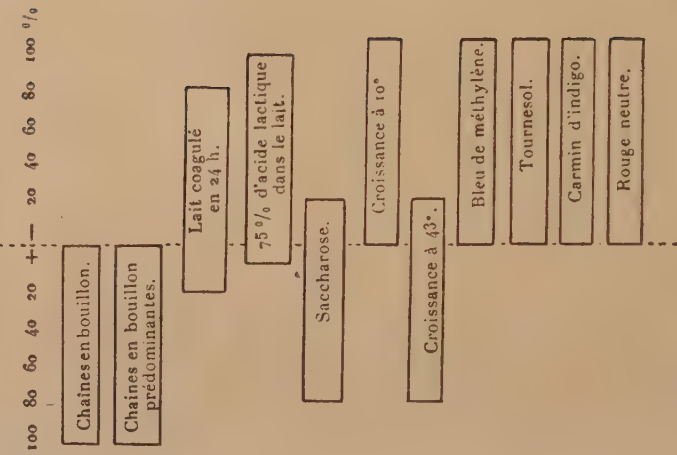


Diagramme montrant les différences entre les streptocoques lactiques et les streptocoques pyogènes.
(D'après SHERMANN et ALBUS.)

Orla-Jensen insiste sur un caractère pathognomonique intéressant du *Str. mastitidis* :

1° Dépôt d'une matière orange dans les cultures en bouillon de caséine peptonisée¹ avec amidon² ;

2° Couleur rouge des cultures en piqure sur gélose fabriquée avec ce bouillon.

E. Réduction des matières colorantes.

L'usage des colorants, pour différencier les *streptocoques* lactiques des *streptocoques* pyogènes, est dû à Gordon, qui employait le rouge neutre. Puis Fred remarqua que les bactéries lactiques réduisaient les couleurs plus activement dans le lait que dans le bouillon (on se sert de lait écrémé stérilisé, car la graisse en montant à la surface forme un bouchon, arrête l'air et facilite la réduction).

Au cours de ces épreuves (Shermann et Albus), on doit noter :

1° La réduction de la couleur ;

2° Le temps nécessaire à la réaction ;

3° Le moment de la réaction relativement à celui où l'on constate la coagulation du lait.

¹ Caséine peptonisée : 100 grammes de caséine obtenue par précipitation à l'aide des acides sont mis à digérer, à 37 degrés, dans un litre d'eau contenant 4 gr. 6 de HCl et 2 grammes de pepsine. La solution obtenue contient après neutralisation, stérilisation et filtration, environ 1 pour 100 de N et 0,8 pour 100 de NaCl.

² Le bouillon dont se sert Orla-Jensen par la culture de *Str. mastitidis* contient 0,5 pour 100 de N sous forme de caséine peptonisée, les sels nécessaires et 2 pour 100 d'amidon soluble. Il doit être neutre au tournesol.

La matière colorante n'apparaît pas, à 30 degrés, avant une semaine ou deux ; elle ne se forme pas du tout si la culture n'est pas pure. La gélose est préparée par l'addition de 1,5 pour 100 de gélose à ce bouillon.

Sur gélose la matière colorante apparaît dès le troisième jour. Ces renseignements sont dus à l'obligeance de M. le professeur Orla-Jensen.)

1° Avec les *streptocoques lactiques vrais*, le temps maximum de réduction est de dix heures avec le bleu de méthylène, le plus sensible des indicateurs pour les ferments lactiques, le moins sensible étant le rouge neutre (Shermann et Albus) ;

2° Les *streptocoques lactiques* réduisent le bleu de méthylène, le carmin d'indigo et le tournesol avant coagulation¹ ;

3° Les *streptocoques pyogènes* ne réduisent habituellement pas les couleurs dans le lait où ils poussent très mal et, s'ils le font, ce n'est qu'imparfaitement et toujours après coagulation.

Pour Orla-Jensen, le pouvoir réducteur est fonction de la vitalité des microbes ; il est donc imparfait.

F. Pouvoir hémolytique.

Ce pouvoir serait réservé aux *streptocoques du type pyogène* (Race). Ils hémolysent la gélose au sang (Kufferrath). Fabre (de Lyon), dans son *Précis d'Obstétrique*, écrivait : « Le streptocoque pyogène se différencie des autres streptocoques par sa propriété de résorber l'hémoglobine en milieu solide et, malgré toutes les discussions, cette propriété reste pour moi caractéristique de la virulence. »

¹ Très souvent le rouge neutre n'est réduit par les *streptocoques lactiques vrais* qu'après coagulation.

Les colorants employés par Sherman et Albus sont préparés de la façon suivante :

I. Bleu de méthylène, 0 gr. 5 ; eau distillée, 1.000 grammes. II. Carmin d'indigo, 1 gramme ; eau distillée, 1.000 grammes. III. Rouge neutre de Grüber, 0 gr. 1 ; eau distillée, 1.000 grammes.

Les solutions de colorants et le lait sont stérilisés séparément.

On ajoute 1 centimètre cube de la solution du colorant employé à 10 centimètres cubes de lait. Le lait stérile et coloré est ensemencé de la culture du streptocoque à examiner et porté à l'étuve à 37 degrés (Shermann et Albus).

On l'examine après six heures.

CHAPITRE IV

LE BACILLE TUBERCULEUX DANS LE LAIT

I. SA SIGNIFICATION

Le lait et les produits qu'on en retire présentent au point de vue de l'infection tuberculeuse plus de danger que la viande. De plus, le bacille tuberculeux peut conserver longtemps sa virulence dans les produits dérivés du lait : lait caillé, fromage, beurre. On le trouve à l'état vivant dans le fromage pendant cinquante à deux cents jours (Titze).

Alors que la contagion interhumaine directe par les fèces bacillaires est négligeable (Rochaix), que les chances de la contamination du lait par des individus tuberculeux ne sont pas un danger bien redoutable (Panisset), un quart des tuberculoses infantiles procèderait de la contagion d'origine bovine par le lait.

Si les mamelles de vaches, *dont chimiquement le lait sera pur*, portent souvent des lésions microscopiques minimales assez redoutables pour en faire de

« véritables tuberculoses ouvertes¹ » (Porcher), nous avons signalé, en citant Schröder et Cotton, que des vaches laitières tuberculeuses en bonne santé apparente, au lait non infectant, pourront déverser dans le lait des bacilles tuberculeux² apportés par les excréments diarrhéiques et qui proviennent des matières expectorées dans un effort de toux, puis régurgitées.

II. SA RECHERCHE

Elle repose sur deux méthodes :

- 1° *L'examen microscopique direct après coloration ;*
- 2° *L'inoculation au cobaye.*

1° *Examen.* — Besson, dans sa *Technique micro-biologique*, indique les trois procédés suivants :

1° Laisser déposer le lait frais pendant vingt-quatre heures et rechercher le bacille dans le sédiment (coloration par la méthode de Ziehl³) ;

2° Centrifuger et rechercher le bacille dans le culot de centrifugation ;

3° Coaguler 20 centilitres de lait en y ajoutant un peu d'acide citrique en poudre ; filtrer, dissoudre le précipité sur le filtre dans une solution de phosphate de soude ; placer le liquide obtenu dans un gros tube à essais ; y verser

¹ Nocard a montré que les mamelles en activité sont un excellent milieu de culture pour le *B. tuberculeux*.

² Récemment, Titze et John ont montré que des animaux atteints de tuberculoses locales au début (tuberculoses hépatiques) éliminent fréquemment au dehors par l'intestin des bacilles qu'y déverse l'excrétion biliaire.

³ Les bacilles paratuberculeux des beurres, des plantes, des prairies, de l'intestin des vaches, sont seulement acido-résistants, tandis que le *B. de Koch* est acido-alcool-résistant (Montvoisin).

quelques centimètres cubes d'éther. Agiter pendant une dizaine de minutes. Décanter l'éther chargé de beurre et soumettre le liquide aqueux à la centrifugation. Examiner le dépôt.

Par cette dernière méthode, on décèlera rarement le bacille tuberculeux dans le lait où généralement il n'est pas abondant.

On lui préfère l'épreuve suivante qui ne peut évidemment pas être prise comme « test » de contrôle rapide.

2° Inoculation au cobaye :

Centrifuger le lait et injecter au cobaye 1 centimètre cube de mélange, crème et culot de centrifugation, sous la peau de la face interne de la cuisse ou dans le péritoine. Quand le lait contient des bacilles de Koch virulents, le ganglion inguinal du côté de l'injection s'hypertrophie et l'animal meurt au bout de trois semaines ou un mois. A l'autopsie, la rate, le foie, etc., présentent des lésions tuberculeuses évidentes¹.

¹ Ces méthodes insuffisantes à elles seules en hygiène ne sauraient en aucune façon être comparées au contrôle vétérinaire des bêtes sur pied et à l'épreuve révélatrice de la tuberculine ; une police sanitaire instituée sur de telles bases préviendra en outre beaucoup d'infections causées par la contamination du lait.

CHAPITRE V

LE *BACILLUS ENTERITIDIS* *SPOROGENES* DANS LE LAIT

Appelé par les Anglais *B. Welchii*, ce bacille, découvert par Klein, a, par lui-même, une action pathogène variable; c'est un *anaérobie* très répandu dans la nature (poussières, fèces humaines et animales, eaux d'égout). Race fait remarquer :

1° Son abondance dans les excréments;

2° *Sa non-reproduction dans le lait.*

Sa constatation serait donc ici très précieuse comme « test ». Toutefois, sa présence dans le lait ne saurait pas être exclusivement rattachée à la contamination de cet aliment par les excréments, car ce bacille est également l'hôte habituel des récipients et des pots métalliques qui n'ont pas été stérilisés par la vapeur d'eau bouillante. Ajoutons que, les spores de ce bacille résistant à la pasteurisation, sa présence dans le lait ne pourrait que renseigner sur l'état de celui-ci avant cette manipulation.

La numération des spores est effectuée de la façon suivante (Savage) :

Introduire, dans 10 tubes stérilisés, 2 centimètres cubes du lait à examiner (cette quantité pourra du reste varier selon la nature de l'échantillon).

Chauffer les tubes pendant 15 minutes au bain-marie à 80 degrés. Les refroidir et les laisser incuber en anaérobiose¹ deux jours à 37°C. Rechercher alors dans ces tubes l'« enteritidis change » (transformation produite dans le lait par ce bacille) qui se traduit par une séparation complète du sérum et du caillot. En outre, on constate une production d'acide facilement décelable au tournesol, et un abondant dégagement de gaz.

Quand l'anaérobiose est réalisée par une couche de paraffine, celle-ci est soulevée par les gaz².

Comme le *B. butyricus* produit aussi dans le lait des changements analogues, mais qu'il n'est pas pathogène pour le cobaye, on complétera l'identification du *B. enteritidis* en injectant 1 centimètre cube de lactosérum sous la peau d'un cobaye.

Si l'on s'est servi de 10 tubes contenant chacun 2 centimètres cubes de lait, le nombre de spores existant le plus probablement dans 100 cubes de l'échantillon est donné par le tableau de Mac Crady :

¹ Dans chaque tube, recouvrir de paraffine la surface de l'échantillon. Cette précaution est souvent inutile, car les globules gras qui montent à la surface produisent habituellement des conditions suffisantes d'anaérobiose.

² Le *B. proteus* digère la caséine sans produire de dégagement gazeux.

Tubes positifs	Nombre le plus probable de spores dans 100 cent cubes
$\frac{0}{10}$	0
$\frac{1}{10}$	5
$\frac{2}{10}$	11
$\frac{3}{10}$	17
$\frac{4}{10}$	25
$\frac{5}{10}$	34
$\frac{6}{10}$	45
$\frac{7}{10}$	60
$\frac{8}{10}$	80
$\frac{9}{10}$	114
$\frac{10}{10}$	Plus de 114

CHAPITRE VI

AUTRES « TESTS » MICROBIOLOGIQUES

a) *L'épreuve de fermentation* renseigne souvent sur la présence dans le lait de microbes sporulés (*B. subtilis* et ses variétés). On obtient, même fréquemment, avec les laits pasteurisés et stérilisés, un caillot déchiqueté par des gaz (ressemblant à celui obtenu avec le lait contenant du *B. coli*) et possédant une odeur éthérée de fromage.

La culture de ce lait en bouillon donne la pellicule précoce, si caractéristique du *B. subtilis*.

b) Au cours de l'*examen microscopique*¹ du dépôt de centrifugation des laits en expertise, on se rendra compte du nombre de microbes présents sur la préparation, surtout s'il s'agit d'un lait stérilisé, pasteurisé, ou d'un lait cru aseptique. Les laits crus dits aseptiques

¹ La numération approximative par voie directe au microscope (méthode de Breed) se fait de la façon suivante : on étale un volume donné de lait, préalablement rendu bien homogène, sur une lame porte-objet. On fixe par la chaleur. On dégraisse par le xylol ou le chloroforme. et on colore par les couleurs d'aniline. On compte sous le microscope les microbes colorés, et l'on ramène par le calcul à l'unité de volume de lait, c'est-à-dire le centimètre cube.

ou les laits fraîchement traités ne montrent que de très rares microbes, parfois pas du tout.

On recherchera également les *levures* et les *moisissures* : leur présence dans les laits pasteurisés ou stérilisés indique un mauvais chauffage, ou une contamination postérieure à l'action microbicide de la chaleur.

Dans les laits ordinaires, la présence des levures, si on les trouve en abondance, est un indice défavorable. On ne rencontre habituellement pas de moisissures (*Oïdium*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, etc.).

c) Si l'on fait des *plaques pour numération*, la présence d'espèces chromogènes comme le *B. prodigiosus*, le *B. violaceum*, est considérée comme défavorable.

De même, sont indésirables les microbes qui liquéfient la gélatine (*B. fluorescens liquefaciens*).

Les organismes sporulés ne doivent pas figurer sous plus de deux espèces (*B. subtilis*, *B. mesentericus*), dans les laits traités par la chaleur. Ils poussent sur la gélose de Kufferath où ils produisent facilement leurs spores.

CHAPITRE VII

RECHERCHES PERSONNELLES ¹

I. Action de certaines bactéries lactiques sur le rouge neutre.

Dès l'instant où l'on doit admettre l'existence dans le lait de différentes variétés de *colibacilles*, on peut se demander si les distinctions que certains auteurs ont voulu établir en espèces pathogènes, saprophytes et inoffensives, doivent être acceptées ici. En raison de l'imperfection et de la lenteur des méthodes employées, nous ne le pensons pas. Nous avons cherché à appliquer un procédé simple et pratique de recherche de la contamination du lait par des matières excrémentielles (*colibacille*, *urobacilles*, *bacilles stercoraires*), et nous nous sommes demandé si les méthodes au rouge neutre, comme les comprend Rochaix, pour l'eau, lui étaient applicables.

Nos essais voulaient être seulement qualitatifs.

Nous nous servions du bouillon suivant, réparti en tubes de 10 centimètres cubes :

¹ Ces recherches ont été effectuées au Laboratoire de Recherches vétérinaires de l'Armée et au Laboratoire d'Hygiène de la Faculté de médecine de Lyon.

Eau de viande : 1 litre.

Solution aqueuse de rouge neutre au 1/100^e : 3 centimètres cubes.

La réaction étant difficile à apprécier quand on ensemence des quantités mêmes minimales de lait dans ce bouillon coloré, nous avons fait des dilutions; mais afin d'augmenter l'échelle de recherche du *B. coli* sur des laits frais, nous avons préféré faire incuber préalablement le lait vingt-quatre heures à l'étuve, pour permettre au *B. coli* d'y pulluler. Il devenait alors facile de prélever avec une petite anse de platine un peu de la culture lactée et d'ensemencer ainsi nos tubes de bouillon au rouge neutre, sans obtenir de trouble visible. Les résultats sont les mêmes que ceux que l'on obtient avec l'eau et soit à 37 degrés, soit à 40 degrés, nos réactions étaient toujours positives (teinte jaune canari dans le tube, avec fluorescence verte).

Des tubes ensemencés dans les mêmes conditions avec du lait stérilisé n'ont pas changé de couleur.

Simultanément, nous recherchions toujours par une autre méthode la présence du *B. coli* dans les laits expertisés¹. L'examen des laits du commerce le décelait toujours.

Nous nous sommes également préoccupé de rechercher le *B. coli* dans le lacto-sérum, mais une question préalable se pose : le *B. coli* passait-il bien dans le sérum après coagulation du lait?

¹ Le lait expertisé étant ensemencé dans du bouillon au moyen de l'anse de platine, après incubation de quelques heures à l'étuve à 37 degrés, nous ensemencions des plaques de gélose lactosée-tournesolée avec la culture en bouillon. Les colonies rouges de *B. coli* étaient identifiées par les procédés habituels.

Des plaques de gélose lactosée-tournesolée nous donnèrent toutes les fois des résultats positifs avec du lacto-sérum de lait stérilisé, après ensemencement par du *B. coli*.

Egalement, des tubes de bouillon au rouge neutre ensemencés avec ce lacto-sérum montrèrent encore une réduction complète du colorant.

* * *

Si la réaction du rouge neutre est positive, quand il s'agit d'un lacto-sérum contenant seulement du *B. coli*, il est probable que, pour le lait cru, comme pour l'eau, d'autres microbes la donnent aussi.

Quels sont-ils?

Nous avons examiné le lacto-sérum d'un lait ancien de quinze jours et titrant 2 gr. 10 pour 1.000 d'acidité exprimée en acide sulfurique à la phénolphtaléine (soit près de 40 degrés Dornic), pensant ne plus y trouver de *B. coli*, mais cherchant néanmoins à voir si la réaction du rouge neutre serait positive.

Le résultat justifia nos prévisions. La réaction du rouge neutre fut absolument typique (un tube témoin stérile de bouillon au rouge neutre non ensemencé resta sans changement).

Nous avons alors ensemencé des plaques de gélose lactosée-tournesolée avec quelques gouttes de culture des tubes positifs. En quarante-huit heures, à 37 degrés, nous avons isolé sur ces plaques de nombreuses colonies. Les plus nombreuses, incolores ou jaunâtres, quelques-unes rouges et en grains de semoule.

A l'examen microscopique, aucune des colonies rouges ne montrait de *B. coli*, mais toutes un *streptocoque* prenant mal le Gram. Les autres colonies étaient formées de divers éléments : *cocci*, *longs bacilles* prenant le Gram (*streptocoques*, *streptobacilles*, *bacilles à Gram positif*).

Plusieurs des colonies, qui n'étaient pas des colonies de *streptocoques*, produisirent, avec le bouillon au rouge neutre, la réaction typique que donne le *colibacille*.

Le *streptocoque* des colonies rouges, après repiquage en bouillon Martin, fut également examiné à ce point de vue. Il donna aussi une réaction positive.

L'identification de ce *streptocoque* est donnée plus loin.

Ces recherches confirment les résultats obtenus par Shermann et Albus et montrent que *la réaction du rouge neutre est loin d'être spécifique au point de vue de la recherche du colibacille dans le lait*. Certains *streptocoques* que ce liquide renferme la donnent d'une façon constante, sans parler d'autres micro-organismes que nous n'avons pas identifiés.

II. Action de certains champignons sur le rouge neutre.

Il est connu que certains champignons très répandus dans la nature : *Penicillium*, *Aspergillus*, *Oïdium*, *Sterigmatocystis*, *Rhizopus*, sont susceptibles de se développer dans un milieu acide comme le lacto-sérum de laits aigris qu'ils ont pu ensemençer.

Ces champignons modifient le milieu qu'ils rendent ensuite alcalin, propriété qui est utilisée dans la fabrication des fromages. Cependant, l'un des plus communs dans le lait, l'*Oïdium lactis*, est acidogène.

Nous avons voulu cultiver quelques espèces banales de ces champignons dans un bouillon glucosé au rouge neutre, et étudier en même temps leur action sur ce colorant.

Nous nous sommes servi de bouillon glucosé Besson¹, possédant à la phénolphtaléine une acidité de 1 gr. 25 pour 1000, exprimée en acide sulfurique.

Ce bouillon, d'une belle couleur rouge pâle, était réparti par quantités de 10 centimètres cubes dans des tubes ordinaires, et douze tubes furent ensemencés, par groupes de deux, avec les champignons suivants :

Aspergillus sp., *Sterigmatocystis nigra*, *Oïdium aurantiacum*², *Rhizopus nigricans*, *Penicillium* sp., *Streptothrix Dassonvillei*.

Nous gardions un tube témoin de bouillon Besson, et le tout fut porté à l'éluve à 37 degrés.

Après vingt-quatre heures, les tubes observés ne présentaient aucune modification. Il en fut de même trois jours après.

Ce n'est qu'à partir du sixième jour que nous eûmes les résultats suivants :

Les tubes ensemencés avec l'*Aspergillus*, le *Sterigmatocystis nigra*, l'*Oïdium aurantiacum*, ont pris

¹ La formule de ce bouillon est : eau de viande, 1 litre; glucose, 4 grammes; solution aqueuse de rouge neutre à 1 pour 100, 3 centimètres cubes.

² Nous n'avions pas à notre disposition d'*Oïdium lactis*.

une teinte jaune clair, seulement dans les couches supérieurs du bouillon, là où ces champignons avaient poussé.

Trois tubes n'ont pas changé de couleur : ceux du *Rhizopus nigricans*, du *Penicillium* et du *Streptothrix*. Les deux premiers champignons ont poussé dans toute la hauteur des tubes; le dernier, le *Streptothrix*, n'a pas poussé.

Une moitié des tubesensemencés des cinq premiers champignons (le *Streptothrix* n'ayant pas poussé) est remplacée à l'étuve; sur l'autre, on procède à des dosages d'acidité et d'alcalinité qui ont donné les résultats suivants¹ :

Aspergillus : 0 gr. 10 pour 1000 d'alcalinité (exprimée en NaOH).

Sterigmatocystis nigra : 0 gr. 16 pour 1000 d'alcalinité.

Oïdium aurantiacum : 0 gr. 05 pour 1000 d'alcalinité.

Rhizopus nigricans : 0 gr. 07 pour 1000 d'alcalinité.

Penicillium : 1 gr. 25 pour 1000 d'acidité.

Neuf jours après l'ensemencement : l'*Aspergillus*, le *Sterigmatocystis nigra*, l'*Oïdium aurantiacum*, le *Rhizopus nigricans* ont viré le rouge neutre au jaune d'or et poussé dans toute la hauteur du bouillon; l'*Oïdium aurantiacum* n'a poussé qu'en surface; le *Penicillium* n'a poussé que dans les trois quarts supérieurs du bouillon qui, sur cette étendue, a viré au jaune d'or.

¹ Je dois remercier M. Perrin, préparateur au Laboratoire de Recherches vétérinaires, qui a bien voulu effectuer ces dosages.

Les dosages effectués dans les mêmes conditions que les précédents ont donné les résultats suivants :

<i>Aspergillus</i>	0 gr. 10	pour 1000 d'alcalinité	
<i>Sterigmatocystis nigra</i> .	0 gr. 09	—	—
<i>Oïdium aurantiacum</i> . .	0 gr. 20	—	—
<i>Rhizopus nigricans</i> . .	0 gr. 16	—	—
<i>Penicillium</i>	0 gr. 21	—	—

Ces expériences ont montré, par l'emploi du rouge neutre, qui vire au jaune sous l'influence des alcalis, que les champignons que nous avons étudiés, à l'exception du *Streptothrix*, sont susceptibles de se développer dans un milieu acide et virent le rouge neutre sans donner de fluorescence du milieu; mais, pour ce faire, il faut un espace de temps très étendu; le *B. coli* vire le rouge neutre, avec fluorescence, beaucoup plus rapidement.

III. Identification du streptocoque de Guillebeau.

Il s'agit du streptocoque que nous avons rencontré dans un lait vieux de quinze jours et qui sur gélose lactosée-tournesolée donnait des colonies rouges.

MORPHOLOGIE

En bouillon Martin et en bouillon-sérum, ce *streptocoque* se présente sous la forme de longues chaînettes d'éléments allongés, lancéolés, souvent agglutinées en gros amas.

Sur milieux solides, il forme de courtes chaînettes

(cellules sphériques et parfois lancéolées) associées par deux ou par trois.

Le même aspect se rencontre dans les cultures en lait au bout de vingt-quatre heures.

COLORATION

Ce *streptocoque* prend mal par le Gram.

VITALITÉ

Il pousse bien à 37 degrés et même à 43 degrés.

En bouillon Martin phéniqué à 0 gr. 85 pour 1000, il pousse en quelques heures à 37 degrés et à 40 degrés.

Il ne pousse pas dans un bouillon phéniqué à 5 grammes pour 1000¹.

CULTURES

a) *Gélatine* : non liquéfiée. En piqure, il se forme à partir du troisième jour une mince pellicule à la surface, et un trouble blanchâtre le long de la piqure.

b) *Gélose* : le long des stries, apparaissent de petites colonies en grains de semoule, transparentes, blanchâtres, à centre opaque.

¹ Nous avons souvent constaté, au cours de nos recherches du *B. coli* dans le lait, par la culture en milieux phéniqués, suivie d'isolement sur plaques, que le *B. lactis aerogenes* se développe comme le *B. coli* dans les bouillons phéniqués à 0,85 pour 1000. Nous avons constaté aussi que le *B. coli* et le *B. lactis aerogenes* vivent dans un bouillon contenant 10 pour 1000 d'acide phénique. (D'après Miquel, le *B. coli* ne serait tué dans le bouillon qu'à partir d'une dose de 33 gr. 3 d'acide phénique par litre.)

c) *Bouillons au rouge neutre :*

1° *Bouillon Besson*¹ (tube à clochette). — En vingt-quatre heures, à 37 degrés, réduction incomplète, dans le tube à clochette seulement, avec dégagement de gaz. A 41 degrés, aucune réduction.

2° *Bouillon Besson sans glucose*. — En vingt-quatre heures, à 37 degrés, réduction typique (teinte jaune canari et fluorescence verte dans toute la hauteur du bouillon; pas de gaz). La même réduction se voit à 41 degrés en quarante-huit heures.

3° *Bouillon Martin*² au rouge neutre sans glucose. — En vingt-quatre heures, à 37 degrés, teinte jaune d'or avec fluorescence verte.

4° *Bouillon Besson, sans clochette, en anaérobie* en tubes scellés. — Réduction partielle en seize heures. Teinte jaune brun du milieu et légère fluorescence.

La réaction est plus accusée en quarante-huit heures, mais toujours sans la teinte jaune canari.

d) *Lait* : la coagulation apparaît dans les vingt-quatre heures; le sérum est acide; pas de digestion consécutive de la caséine; le lait est devenu visqueux.

e) *Virulence* : une injection sous-cutanée d'un dixième de centimètre cube de culture en bouillon à la souris a été sans effet.

¹ A l'occasion de l'étude du *streptocoque* de Guillebeau, nous avons confirmé à maintes reprises l'opinion de Rochaix et de Guerbet, qui ont montré que la présence de sucres (exception faite de la petite quantité provenant des viandes utilisées pour la fabrication des bouillons) empêche ou gêne le virage du rouge neutre au jaune canari, avec fluorescence verte (due à une réduction du colorant en milieu alcalin).

² Ce bouillon a pour formule : bouillon Martin, 1.000 centimètres cubes; solution aqueuse de rouge neutre à 1 pour 100, 3 centimètres cubes.

CONCLUSION

En appliquant la règle de Löhnis pour la détermination des bactéries, nous voyons que ce streptocoque ne liquéfiant pas la gélatine, coagulant le lait et formant des gaz avec le glucose, est le *Streptococcus mastitidis* Guillebeau, ou *Micrococcus mastitidis* de Nocard et Mollereau, agent de la mammite contagieuse de la vache.

IV. Examen d'un lait recueilli dans certaines conditions d'asepsie.

Nous avons recherché le *B. coli* dans un lait traité à la ferme de l'Institut Pasteur, à Garches¹, avec les précautions suivantes : savonnage des mains de la trayeuse, et simple lavage du pis de la vache à l'eau courante. Le lait était recueilli dans une boîte à lait stérilisée.

Le lait fut mis à l'étuve à 37 degrés pendant vingt-quatre heures, puis on ensemença la valeur d'une anse de platine dans 10 centimètres cubes de bouillon additionné, selon la technique de Bruynoghe, de 0,2 centimètre cube d'une solution d'acide phénique à 5 pour 100 et, après agitation, placé à l'étuve à 41 degrés pendant dix-huit heures (tubes à bouchon de caoutchouc et agitation).

L'examen à l'état frais montra de nombreux *bacilles*

¹ Nous tenons à remercier bien vivement M. A. Prévôt de son extrême obligeance pour nous avoir facilité nos recherches.

immobiles, quelques très rares bacilles mobiles, et des *cocci* entourés d'une auréole (fausse capsule); après coloration par la méthode de Gram, on nota quelques *staphylocoques*, un fin *streptocoque*, un *bacille allongé* prenant le Gram.

Un premier isolement par épuisement sur gélose inclinée donna, après trente-six heures d'éluve à 37 degrés, deux sortes de colonies; les unes, petites, blanches, porcelainées, rondes, et d'autres plus épaisses, jaunes et arrondies; dans les deux cas, il s'agissait nettement de *staphylocoques* à l'examen microscopique. Un autre isolement, fait simultanément au moyen de plaques de gélose dulcité tournesolée¹, décéla encore du *staphylocoque*, puis un *streptocoque*.

La recherche du *colibacille* dans un litre de lait recueilli proprement, dans un vase stérile, mais sans lavage du pis au savon, fut donc négative.

Un autre litre de lait recueilli le même jour, dans les mêmes conditions, sur une autre vache, ne contenait que quelques rares *streptocoques*, de nombreux *cocci*, et du *B. subtilis*.

¹ Pour la recherche du *B. lactis aerogenes* (le *B. lactis aerogenes* ne fait pas fermenter la dulcité et donne sur la gélose dulcité tournesolée des colonies crémeuses caractéristiques).

CONCLUSIONS

I. — En France, l'examen du lait n'a jamais, jusqu'ici, utilisé systématiquement les méthodes de l'analyse microbiologique.

II. — Aux Etats-Unis, au Canada, cette analyse comporte, comme celle de l'eau, des investigations de deux sortes :

1° Quantitatives;

2° Qualitatives.

Le lait étant un excellent milieu de culture pour la plupart des microbes qui le souillent, ils s'y multiplient beaucoup plus abondamment que dans l'eau.

De plus, la température du lait fraîchement trait et abandonné à lui-même s'abaisse très lentement, et, si l'on ne prend pas la précaution de refroidir le lait dès la traite avec des moyens appropriés, il reste pendant de longues heures à une température très favorable à la croissance de tous les germes. Du lait contaminé est donc, en raison de ces conditions, un véritable bouillon de culture où se développent en grande abondance les microorganismes qui l'ontensemencé.

Par suite, la numération globale des microbes, plus encore pour le lait que pour l'eau, ne saurait avoir de valeur que pour les espèces non pathogènes. Pour les bactéries pathogènes ou indésirables, l'analyse qualitative prend une grande importance.

Les méthodes quantitatives, employées pour le lait, souffrent les mêmes reproches que lorsqu'elles s'adressent à l'eau. Dans ces conditions, la nécessité s'impose de les parfaire par la recherche de « *tests* » de *contamination*.

III. — Les *tests* choisis pour le lait sont :

1° La présence du *colibacille* (communément recherché dans l'eau);

2° Celle des *streptocoques*;

3° Celle de *certaines anaérobies*.

1° Dans la recherche du *B. coli*, les *méthodes colorimétriques basées sur la réduction du rouge neutre*, utilisées pour l'eau, sont inapplicables au lait, car à côté du *B. coli*, se trouve une flore microbienne lactique abondante et variée, dont la plupart des individus réduisent aussi le rouge neutre (*streptocoques*), souvent même à 40 degrés.

Au sujet de cette action, nous avons montré que certaines moisissures susceptibles de se trouver dans le lait (*Penicillium*, *Oïdium aurantiacum*, *Rhizopus nigricans*, *Sterigmatocystis nigra*, *Aspergillus*) font virer le rouge neutre, mais incomplètement et en dehors des limites de temps admises pour la réaction sous l'influence des microbes.

Les méthodes de culture en milieux phéniqués,

applicables à la recherche du *B. coli* dans l'eau, sont plus longues pour le lait que pour l'eau, et moins satisfaisantes, certains hôtes habituels ou très fréquents du lait, notamment le *B. lactis aerogenes* et la plupart des *streptocoques* cultivant bien dans les milieux phéniqués à 0 gr. 85 pour 1000 (méthode Vincent).

2° La recherche des *streptocoques* donne des résultats plus rapides. Il est inutile d'essayer de différencier les espèces pathogènes des non pathogènes; le nombre et la grande diversité des espèces de *streptocoques* du lait, les variations et l'inconstance de leurs caractères morphologiques et biochimiques s'y opposent.

La numération approximative au microscope des *streptocoques* et la recherche des leucocytes seront habituellement suffisantes.

3° La recherche des germes anaérobies sera surtout intéressante dans l'examen des laits pasteurisés et stérilisés, qui, de plus, seront examinés au microscope selon la méthode de Kufferath. Elle permet de savoir si un lait contenait beaucoup de microbes avant le chauffage, et s'il s'en est développé depuis.

IV. — Les méthodes d'analyse microbiologique des laits qui nous paraissent les plus simples et les plus pratiques, en dehors de la méthode très indirecte de la « réductase » qui ne saurait en aucune façon remplacer la numération microbienne, sont :

1° Les essais de fermentation (en aérobiose et en anaérobiose);

2° L'examen microscopique direct, fait immédia-

tement après la traite ou dans les laits soumis au chauffage;

3° Les méthodes d'enrichissement en bouillon lactosé, pour la recherche du *colibacille* et des *streptocoques*, suivies de l'examen microscopique du dépôt des tubes de culture positifs.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

P. COURMONT

Vu :

LE DOYEN,

JEAN LÉPINE

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 16 novembre 1921

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

P. JOUBIN

BIBLIOGRAPHIE

- AYERS and JOHNSON, Ability of streptococci to survive pasteurization (*Journ. Ag. Res.*, vol. 2, n° 4, pp. 321-322), 1914.
- AYERS and JOHNSON, Ability of colon bacilli to survive pasteurization (*Journ. Ag. Res.*, vol. 3, n° 5, pp. 401-410), 1915.
- BESSON, *Technique microbiologique*.
- CLARK and LUBS, *Journ. of. inf. dis.*, 17, p. 160, 1915.
- COURMONT et ROCHAIX, *Précis d'Hygiène*, Masson, 1921.
- CRADY (Mac), *Journ. of. inf. dis.*, 14, pp. 411-475, 1914.
- CREEL, *Hyg. Lab. Bull.*, n° 100.
- DOPTER et SACQUÉPÉE, *Précis de Bactériologie*, Baillière, 1921.
- GORINI (C.), Sul comportamento del *Bacterium coli* nell latte. (*Rendiconti d. R. Acad. dei Lincei*, t. XXIX, sér. 5 a), 1920.
- GUERBET, *Contribution à l'étude des bacilles du groupe colityphique*, thèse de pharmacie (diplôme supérieur), Paris, 1911.
- HALL (I.-C.) and LILLIAN JORDAN ELLEFSON, the Elimination of spurious presumptive « tests » for *B. coli* in milk by the use of gentian violet (*Journ. of Bacteriology*, juillet 1918).
- HARRISSON et VANDERLECK, *Revue générale du Lait*, 1909.
- HEINEMANN, *Journ. of. inf. dis.*, 1906, n° 3, p. 175.
- HEINEMANN, *Journ. of. inf. dis.*, 1907, n° 4, pp. 87-92.
- JONES, Streptococci occurring in sour milk (*Journ. of exp. med.*, t. XXXIII, janvier 1921).
- KUFFERATH (H.), Contrôle bactériologique et hygiénique des laits (*Ann. Inst. Pasteur*, 1919, p. 462).
- KUFFERATH (H.), Laits infectés par le Streptocoque (*Ann. Inst. Pasteur*, 1921, p. 167).

- LÖHNIS (F.), Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie, 1910.
- LÖHNIS (F.), *Précis de Bactériologie agricole et de technique expérimentale*, traduction française par Kufferath, Lamertin éd., Bruxelles, 1921.
- MONTVOISIN, *le Lait*, Asselin et Houzeau, Paris, 1920.
- ORLA-JENSEN, the lactic acid Bacteria (*Mém. de l'Acad. royale des Sciences et des Lettres de Danemark*, Copenhague, 1919).
- ORLA-JENSEN, *Dairy Bacteriology*, traduction anglaise par P. S. Arup, Churchill, London, 1921.
- PARKER (H.), *City milk supply*, 1917.
- PORCHER (Ch.), *l'Hygiène du Lait*, Reims, 1912.
- PORCHER (Ch.), le Lait et ses analyses (*Annales des falsifications*, août-septembre 1916).
- RACE (Joseph), *the Examination of milk for public health purposes*, 1918.
- ROCHAIX (A.), Recherche rapide de la contamination des eaux de boisson (*Revue d'Hyg. et de Police sanit.*, juillet-août 1917, p. 472).
- ROCHAIX (A.), *le Bacille de Koch dans les matières excrémentielles humaines et animales*, Legendre, Lyon, 1921.
- ROGERS, *Journ. of inf. dis.*, 14, pp. 411-475, 1914.
- ROGERS (Clark) and EVANS, Colon bacteria and streptococci and their significance in milk (*Amer. Journ. of public health*, vol. VI, n° 4, 1916).
- SAVAGE, *Milk and the public Health*, 1912.
- SAVAGE, *Report of M. O. to L. G. B.*, 1908-1909, pp. 294-315.
- SAVAGE, *Journ. of inf. dis.*, t. XVII, 1915.
- SHERMANN and ALBUS, Identity of the lactic acid streptococcus (*Journ. of Bacteriology*, vol. III, p. 154).
- STITT (E.-R.), *Practical Bacteriology and Parasitology*, Lewis éd., London, 1921.
- TITZE, *Centrablatt für Bakteriologie*, t. LXXXV, 1921, p. 23.
- VIOLLE (H.), le Streptocoque lactique glaireux (*Ann. Inst. Pasteur*, 1921, p. 218).
- VOSGES-PRESKAUER, *Zeitschr. für Hyg.*, t. XXVIII, p. 25.
- WHITTAKER HALL, *Boston publ. Health Association*, 1920, p. 32.
-

TABLE DES MATIÈRES

PRÉFACE	9
INTRODUCTION. — Les sources de contamination du lait . . .	15
CHAPITRE PREMIER. — Le <i>Bacterium coli</i> dans le lait. . .	17
I. Sa signification.	17
1° Dans le lait cru	17
2° Dans les laits pasteurisés	20
3° Dans les laits stérilisés	22
II. Sa recherche	22
1° Essais de fermentation	22
2° Recherche bactériologique du <i>B. coli</i> dans le lait. .	23
1° Milieux lactosés.	26
2° Milieux à l'esculine.	30
3° Milieux au rouge neutre	32
4° Milieux phéniqués	32
CHAPITRE II. — Le <i>Bacillus lactis aerogenes</i> dans le lait .	34
I. Sa signification	34
II. Sa recherche	35
Coup d'œil d'ensemble sur la recherche des organismes du groupe <i>coli aerogenes</i> dans le lait	38
CHAPITRE III. — Les streptocoques dans le lait.	40
I. Leur signification	40
A. Dans le lait cru.	40
B. Dans les laits pasteurisés et stérilisés.	42
II. Leur recherche	43
Coup d'œil d'ensemble sur la recherche des streptocoques dans le lait.	46

A. Morphologie et caractères généraux.	47
B. Liquéfaction de la gélatine	49
C. Coagulation du lait	49
D. Action fermentative sur les sucres	49
E. Réduction des matières colorantes	51
F. Pouvoir hémolytique	52
CHAPITRE IV. — Le Bacille tuberculeux dans le lait.	53
I. Sa signification	53
II. Sa recherche	54
CHAPITRE V. — Le <i>Bacillus enteritidis sporogenes</i> dans le lait	56
CHAPITRE VI. — Autres « tests » microbiologiques	59
CHAPITRE VII. — Recherches personnelles.	61
I. Action de certaines bactéries lactiques sur le rouge neutre	61
II. Action de certains champignons sur le rouge neutre	64
III. Identification du streptocoque de Guillebeau	67
IV. Examen d'un lait recueilli dans certaines condi- tions d'asepsie	70
CONCLUSIONS	73
BIBLIOGRAPHIE	77

